



**Universidade
de Aveiro
Ano 2014**

Departamento de Química

**Nair de Jesus Costa Sensor em fibra ótica para a análise do ião
Lopes amónio na água**



Universidade de Aveiro
Departamento de Química
2014

**Nair de Jesus Costa
Lopes**

**Sensor em fibra ótica para a análise do
ião amónio na água**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica da Doutora Maria Teresa Seabra dos Reis Gomes, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, e da Doutora Alisa Rudnitskaya, Investigadora Auxiliar do Centro de Estudos de Ambiente e Mar.

Dedico este trabalho aos meus pais, e à minha avó materna.

O júri
Presidente

Prof. Doutor Carlos Silva

Professor Auxiliar do Departamento de Química da
Universidade de Aveiro

**Prof. Doutora Maria Teresa Seabra dos
Reis Gomes**

Professora Associada do Departamento de Química da
Universidade de Aveiro

**Prof. Doutora Ana Margarida Madeira de
Barros Viegas Timmons**

Professora Auxiliar do Departamento de Química da
Universidade de Aveiro

Doutora Lúcia Maria Botas Bilro

Bolseira de Investigação em Pós-Doutoramento do
Instituto de Telecomunicações de Aveiro

Agradecimentos

Às minhas orientadoras, Doutora Maria Teresa Seabra dos Reis Gomes e Doutora Alisa Rudnitskaya, pela disponibilidade, paciência e pelos conhecimentos que me transmitiram.

Aos meus colegas de laboratório, Filipa Sequeira e Paulino Muteto pelo apoio e ajuda que me deram durante este percurso.

Queria agradecer aos meus colegas e amigos de Mestrado e em especial ao Cristiano Júnior, Jacinto Moreira e Marcos Cruz pela ajuda e pelos bons momentos que tornaram este percurso bem melhor.

Aos amigos que sempre me apoiaram ao longo de todo este tempo, o meu muito, mas mesmo muito obrigado.

E por último, e mais importante, quero agradecer aos meus pais, à minha avó materna, aos meus irmãos, tios pela motivação, compreensão e apoio dado durante todo este meu percurso académico.

Palavra-chave

sensor ótico, fibra polimérica ótica, polímero molecularmente impresso, poli(metacrilato de metilo), ião amônio

Resumo

O presente trabalho teve como principal objetivo o estudo e o desenvolvimento de um sensor químico em fibra ótica de PMMA para a análise do ião amônio na água.

Fez-se uma revisão da literatura dos diferentes tipos de sensores óticos e do seu impacto na química analítica, em particular para a análise do ião amônio em água. Tais sensores apresentam algumas desvantagens tais como: instabilidade operacional, tempo de vida útil muito reduzido, desempenho afetado por outros componentes presentes em água, tempos de resposta longos, ou resposta dependente da taxa de fluxo da amostra.

O sensor desenvolvido neste trabalho teve por base uma fibra ótica de poli(metacrilato de metilo), que foi funcionalizada com um polímero molecularmente impresso, especialmente concebido para interagir com o analito: o ião amônio. O polímero molecularmente impresso foi sintetizado por polimerização radicalar livre por enxertia. O ácido metacrílico foi utilizado como monómero funcional, o dimetacrilato de etilenoglicol como agente de reticulação, e como solvente usou-se uma mistura etanol/água na proporção (20/80) %. A molécula molde foi o próprio analito, o ião amônio. A fim de selecionar as condições ótimas de polimerização, realizaram-se diversos ensaios variando as concentrações do monómero e do agente de reticulação. A seleção das melhores condições foi feita com base na uniformidade do polímero enxertado. Esta seleção começou por ser feita para um polímero não impresso, para o qual se obtiveram camadas mais uniformes com a solução C (4,3 mM MAA; 7,7 mM EDMA) e posteriormente para o polímero impresso para o qual se obtiveram camadas mais uniformes com as soluções C (4,3 mM MAA; 7,7 mM EDMA e 0,614 mM NH_4^+) e D (2,1 mM MAA; 7,7 mM EDMA e 0,30 mM NH_4^+). Testou-se a sensibilidade em soluções aquosas de amônio, tanto do sensor com a camada de polímero impresso obtido com a solução C e tempo de polimerização de 15 minutos, como com a fibra não modificada. Os resultados dos testes mostraram a variação da intensidade do sinal com a concentração do ião amônio em solução aquosa para o sensor com a camada de polímero impresso. A intensidade do sinal diminuiu para as concentrações do ião amônio entre 0 e 0,01 M, verificando-se uma diminuição da intensidade do sinal em cerca de 25%. O sinal saturou-se para as concentrações entre 0,01 e 0,09 M. No entanto, são necessários testes posteriores para a determinação da gama de trabalho, limite de deteção, repetibilidade e seletividade do sensor de fibra ótica.

Keywords

optical sensor, polymeric optical fiber, poly(methyl methacrylate), molecularly imprinted polymer, ammonium ion

Abstract

The present work main objective was the study and development of a PMMA fiber optical chemical sensor for the detection of ammonium ion in water. Literature review of the different types of fiber optic sensors and their impact on analytical chemistry, in particular for the analysis of ammonium ion in water was carried out. Existing sensors for the detection of ammonium have several drawbacks such as operational instability, very short lifetime, insufficient selectivity to other components present in water, long response times, or dependence of the sensor response of the sample flow rate. The sensor developed in this work was based on a poly(methyl methacrylate) optical fiber functionalized with a molecularly imprinted polymer, specially designed to interact with the analyte, the ammonium ion. The molecularly imprinted polymer was synthesized by free radical polymerization by grafting. Methacrylic acid was used as functional monomer, ethyleneglycol dimethacrylate as a crosslinking agent and a mixture of ethanol / water in the ratio (20/80) % as a solvent. The template molecule was the analyte itself, ammonium ion. In order to select the optimal polymerization conditions, several tests were carried out with varying concentrations of monomer and crosslinking agent. The selection of the best conditions was based on the uniformity of the grafted polymer. This selection was initially made for a non- imprinted polymer, for which more uniform layers were obtained using solution C (4.3 mM MAA, 7.7 mM EDMA), and subsequently for an imprinted polymer for which more uniform layers were obtained using solutions C (4.3 mM MAA, 7.7 mM EDMA and 0.614 mM NH_4^+) and D (2.1 mM MAA, 7.7 mM EDMA and 0.30 mM NH_4^+).

The sensitivity to ammonium ions was tested for unmodified fiber sensor and sensor with grafted imprinted polymer layer synthesised using solution C and polymerization time 15 minutes. No change on the signal intensity with the concentration of ammonium ion in aqueous solution was observed for the non-modified fibre sensor. The sensor modified with imprinted polymer has shown response to ammonium ions in the concentration range between 0 and 0.01 M, resulting in a decrease in the signal intensity of 25%, compared to the stable reading in water. Signal saturation was observed between 0.01 and 0.09 M. Further tests are necessary for determination of working range, detection limit, repeatability and selectivity of optical fiber sensor.

Índice geral

1. Introdução.....	1
1.1. Sensores químicos em fibra ótica	3
1.1.1. Classificação dos sensores químicos de acordo com o papel da fibra ótica no desempenho do sensor.....	4
1.2. Componentes de um sensor químico em fibra ótica	5
1.2.1. Fonte de radiação.....	5
1.2.2. Fibras óticas.....	7
1.2.3. Conectores	7
1.2.4. Fotodetectores.....	8
1.3. Fibras óticas de plástico	9
1.3.1. Estrutura das fibras óticas de plástico.....	10
1.3.2. Abertura numérica de POFs	11
1.3.3. Curva de atenuação espectral das fibras óticas plásticas de PMMA.....	12
2. Estado da arte: sensores óticos para a análise do ião amónio	13
3. Funcionalização da fibra ótica.....	16
3.1. Polímero molecularmente impresso.....	16
3.2. Interação da molécula molde com o monómero e o polímero impresso	17
3.3. Parâmetros experimentais que influenciam o processo de síntese de polímero molecularmente impresso	19
3.3.1. Monómero funcional	19
3.3.2. Agente de reticulação	20
3.3.3. Solvente de polimerização.....	21
3.3.4. Iniciador radicalar.....	21

3.3.5.	Pressão	22
3.3.6.	Temperatura.....	23
3.3.7.	Tempo de polimerização	23
3.4.	Métodos de síntese de polímero molecularmente impresso	24
3.4.1.	Síntese de polímero impresso por enxertia.....	25
4.	Materiais e métodos	27
4.1.	Reagentes e soluções	27
4.2.	Fibra ótica	27
4.3.	Estabilidade da fibra em contacto com diversos solventes.....	29
4.4.	Escolha do iniciador para a polimerização	29
4.5.	Preparação das fibras e imobilização do iniciador, dihidrocloreto de 2,2'-azobis (2-metilpropionamidina) na superfície da fibra de PMMA	30
4.6.	Síntese do polímero não impresso	32
4.7.	Síntese de polímero molecularmente impresso.....	33
4.8.	Caracterização das fibras após polimerização: cálculo do diâmetro e da espessura do polímero	34
4.9.	Arranjo experimental para caracterização ótica do sensor	37
4.10.	Procedimento para o processo de monitorização do efeito da solução do iniciador e da solução de polimerização na transmissão do sinal ótico pela fibra ao longo do tempo.....	39
4.11.	Testes preliminares do sensor na deteção do ião amónio	41
5.	Resultados e Discussão	42
5.1.	Otimização do processo de polimerização.....	42
5.2.	Escolha dos reagentes	42
5.2.1.	Escolha do solvente	42
5.2.2.	Escolha do iniciador	43
5.3.	Esquema reacional da síntese do polímero molecularmente impresso	44

5.4. Concentração do monómero e do reagente de reticulação na mistura de polimerização.....	45
5.4.1. Síntese do polímero não impresso	45
5.4.2. Síntese do polímero molecularmente impresso	51
5.5 Comportamento ótico da fibra com as modificações provocadas pelo processo de polimerização.....	55
5.5.1. Efeito do iniciador sobre a transmissão da radiação pela fibra ótica	55
5.5.2. Efeito da polimerização na transmissão da radiação pela fibra ótica.....	57
5.5.3. Teste do sensor na deteção do ião amónio	59
6. Conclusões	61
Bibliografia.....	63

Índice de figuras

Figura 1: Configurações de fibras óticas utilizadas em sensores químicos: a) fibra ótica, b) fibra ótica com bainha removida, c) fibra ótica com deposição lateral de camada sensível, d) transmissão de luz no terminal de um feixe de fibra ótica, e) feixe fibras bifurcadas, f) configuração em forma de U, g), h) e i) revestimento da ponta da fibra ótica com camada sensível, adaptado de [14].	4
Figura 2: Estrutura de uma fibra ótica de plástico, adaptado de [18].....	10
Figura 3: Definição de abertura numérica de uma POF, adaptado de [18]......	11
Figura 4: Atenuação espectral das fibras óticas de plástico com núcleo de PMMA, adaptado de [18].	12
Figura 5: Esquema ilustrativo da síntese do polímero molecularmente impresso e posterior religação do analito, adaptado de [31]......	17
Figura 6: Imagem da fibra PMMA monomodo.	28
Figura 7: Imagem da fibra PMMA multimodo.	28
Figura 8: Estrutura química do 4'4'-azobis- (4-ácido cianoaléico).....	29
Figura 9: Estrutura química do dihidroclorato de 2,2'-azobis (2-metilpropionamida). ..	30
Figura 10: Procedimento para aquecimento da lâmina a 60 °C.....	30
Figura 11: Corte da fibra com lâmina de vidro e lâmina de barbear.	31
Figura 12: Lavagem da fibra no banho de ultrassons.	31
Figura 13: Esquema do reator usado na polimerização.....	33
Figura 14: Imagem de uma fibra multimodo não polimerizada com visualização da escala. As linhas a azul correspondem à marcação de 5 posições para medição do diâmetro.....	35
Figura 15: Imagem de uma fibra monomodo não polimerizada com visualização da escala. As linhas a azul correspondem à marcação de 5 posições para medição do diâmetro.....	35
Figura 16: Processo efetuado para a medição do diâmetro da fibra para cada condição experimental.	36
Figura 17: Montagem experimental para a caracterização do sensor de detecção do ião amônio na água, 1) fonte de radiação, 2) reator, 3) detector.	38
Figura 18: Esquema ilustrativo do posicionamento da fibra no reator.....	39

Figura 19: Enxertia do polímero impresso com ião amónio na superfície do PMMA, adaptado de [50].	45
Figura 20: Espectros da intensidade da radiação transmitida por uma fibra multimodo em função do comprimento de onda, obtidos ao longo do tempo que a fibra se encontrava mergulhada na solução do iniciador.	55
Figura 21: Integral da área normalizada a t1 (adição da solução) em função do tempo – monitorização com solução de iniciador (Δ) e solução tampão (o).	56
Figura 22: Integral da área normalizada a t1 (adição da solução) em função do tempo – monitorização com solvente (Δ) e solução de polimerização (o), S (solução de solvente), P (Solução de polimerização), t2 (tempo a partir do qual inicia o aquecimento), t3 (tempo quando o sinal começa a diminuir), t4 (início da polimerização), t5 (após 30 minutos de polimerização).	57
Figura 23: Integral da área normalizada a t1 (adição da solução) em função do tempo – monitorização com solução de polimerização (o), t2 (tempo a partir do qual inicia o aquecimento), t3 (tempo quando o sinal começa a diminuir) t4 (início do processo de polimerização), t5 (após 20 minutos de polimerização).	58
Figura 24: Integral da área do espectro normalizada pela área do espectro correspondente ao tempo de estabilização da água no reator em função da concentração do ião amónio...	60

Índice de tabelas

Tabela 1: Concentrações dos reagentes usados no processo de síntese de polímero não impresso.....	32
Tabela 2: Concentrações dos reagentes usados no processo de síntese de polímero molecularmente impresso.	34
Tabela 3: Teste de solubilidade da fibra de PMMA em alguns solventes.....	43
Tabela 4: Teste de solubilidade do PMMA em água e misturas etanol/água à temperatura de decomposição de ambos os iniciadores.	44
Tabela 5: Diâmetro das fibras revestidas e espessura do polímero enxertado, obtido com cada uma das soluções de polimerização.	47
Tabela 6: Imagens das fibras polimerizadas, obtidas por microscopia ótica.....	48
Tabela 7: Diâmetro das fibras revestidas e espessura do polímero enxertado, obtido com a solução C (água).	50
Tabela 8: Imagens das fibras polimerizadas com a solução C preparada em água, obtidas por microscopia ótica.....	51
Tabela 9: Diâmetro das fibras revestidas e espessura do polímero molecularmente impresso, obtido com cada uma das soluções de polimerização.	53
Tabela 10: Imagens das fibras polimerizadas obtidas por microscopia ótica.	54

Lista de abreviaturas e símbolos

AAPH	Dihidrocloreto de 2,2'- azobis [2-metilpropionamidina]
APD	Fotodiodo de avalanche
EDMA	Dimetacrilato de etilenoglicol
EPA	Environmental Protection Agency
FOCs	Sensores químicos em fibra ótica
L	Comprimento da fibra ótica
LEDs	Díodos emissores de luz
MMA	Ácido metacrílico
NA	Abertura numérica de uma fibra ótica
n_{c0}	Índice de refração do núcleo da fibra ótica
n_{cL}	Índice de refração da bainha da fibra ótica
OPA	Ortoftalaldeído
P	Potência de saída
P_0	Potência de entrada
PMIs	Polímeros molecularmente impresso
PMMA	Poli(metacrilato de metilo)
PMT	Tubos fotomultiplicadores
UV	Ultravioleta
α	Atenuação espectral de uma fibra ótica
Θ_{imax}	Ângulo de abertura do cone de aceitação

1. Introdução

O ião amónio é um dos poluentes comuns em águas superficiais. A presença do ião amónio em altas concentrações nas águas superficiais pode dever-se a descarga de águas residuais domésticas e industriais, assim como à poluição proveniente das atividades agrícolas e de criação de gado [1].

A presença do ião amónio na água pode ter efeitos crónicos na saúde humana e na vida aquática. O excesso do ião amónio no organismo humano pode causar alterações no metabolismo, e provocar danos à saúde humana quando ingerido [2]. Para os peixes e outras formas de vida aquática, o ião amónio torna-se um poluente extremamente perigoso mesmo quando em concentrações muito baixas, de apenas 0,2 mg/L [1]. Altas concentrações do ião amónio em água podem levar à eutrofização, estimulando o crescimento de algas e plantas aquáticas, que reduzem o oxigénio dissolvido com consequências nocivas para a vida aquática [1, 3].

O limite máximo para o ião amónio foi estipulado em 0,5 mg/L para a água para beber e 1,5 mg/L para a água superficial destinada ao consumo humano, conforme a diretiva EEC/98/93 da Legislação Europeia [4, 5] .

Atualmente existe uma variedade de métodos para a análise do amoníaco na água, tais como espectrofotometria, voltametria, fluorometria e cromatografia iónica. O método espectrofotométrico baseado na reação de Berthelot é o mais amplamente usado para a determinação quantitativa do ião amónio e o método padrão para a análise de água recomendado pela Environmental Protection Agency (EPA) [6]. O método de Berthelot envolve a formação do indofenol de cor azul a partir da solução de hipoclorito de fenol e amoníaco sob condições alcalinas. Uma das desvantagens deste método é que o método está sujeito à interferência de cobre, zinco, ferro, sulfuretos, tióis, ácido ascórbico, compostos de azoto e orgânicos dissolvidos, tais como aminoácidos, ureia, e os ácidos nucleicos. Outras desvantagens são a sensibilidade insuficiente à determinação do ião amónio nas águas e a precipitação de hidróxidos, como o de magnésio, em condições alcalinas [6]. A cromatografia iónica é particularmente útil para a separação, identificação

e quantificação de íões amónio a nível de $\mu\text{g/L}$, embora apresente a desvantagem de ser um método muito dispendioso.

Os métodos electroanalíticos, tais como a voltametria de redissolução catódica catalítica e a potenciometria com eléctrodos seletivos ao íão amónio apresentam a desvantagem de serem suscetíveis às interferências por aminas e a análise direta pode exigir tempos de equilíbrio longos [6]. Além disso os sensores potenciométricos não são suficientemente seletivos ao íão amónio em presença de catiões como sódio ou potássio e por isso uma etapa de destilação antes da determinação do íão amónio pode ser necessária [7].

A fluorometria é um método atraente devido à sua elevada sensibilidade, principalmente quando o método envolve a reação do íão amónio com ortoftaldeído (OPA), produzindo derivados isoindoles altamente fluorescentes. Este método, quando utilizado no modo derivatização pré-coluna apresenta algumas desvantagens entre as quais se conta a decomposição com o tempo do composto marcado íão amónio-OPA e a dependência com o tempo entre a derivatização e a análise [6].

No presente contexto pretendeu-se quantificar o íão amónio através do desenvolvimento de um sensor em fibra ótica de poli(metacrilato de metilo) (PMMA), funcionalizado com um revestimento de um polímero molecularmente impresso.

Os sensores químicos de fibra ótica (FOCs) para a análise do íão amónio na água, possuirão várias vantagens face aos sensores eletroquímicos. Apresentarão imunidade à interferência eletromagnética, serão passíveis de ser produzidos em massa a baixo custo, serão robustos, possuirão a capacidade de transmitir a radiação ao longo de grandes distâncias sem perdas significativas o que permitirá a deteção remota, chegando a lugares de difícil acesso para a monitorização, minimizando desta forma as dificuldades relacionadas com o tratamento e recolha de amostra [8, 9].

Para além destas vantagens, os sensores químicos em fibra ótica, ao invés dos sensores eletroquímicos, não necessitam de eléctrodo de referência [8, 10].

O revestimento do sensor com um polímero molecularmente impresso foi feito via polimerização radical livre por enxertia na superfície da fibra. No desenvolvimento de sensores os polímeros molecularmente impressos como elementos de reconhecimento

artificial têm sido uma alternativa viável para a síntese de ionoforos para os sensores químicos, devido à sua estabilidade térmica, química e mecânica, fácil preparação e possibilidade de produzir o polímero impresso com praticamente qualquer tipo dos compostos. Escolheu-se a técnica de enxertia em detrimento de outras (massa, suspensão, precipitação) porque permite a integração mais fácil do PMIs no sensor [11, 12].

1.1. Sensores químicos em fibra ótica

Sensores químicos em fibra ótica (FOCs) representam uma subclasse de sensores químicos, em que uma fibra ótica é geralmente utilizada para transmitir a radiação para/ e a partir de um ambiente de detecção, que está em contacto direto com a amostra [13].

Apesar de existir um grande número de FOCs, as configurações físicas empregada são relativamente poucas em número, com a maioria dos sensores caindo em uma das categorias ilustradas na Figura 1 [14].

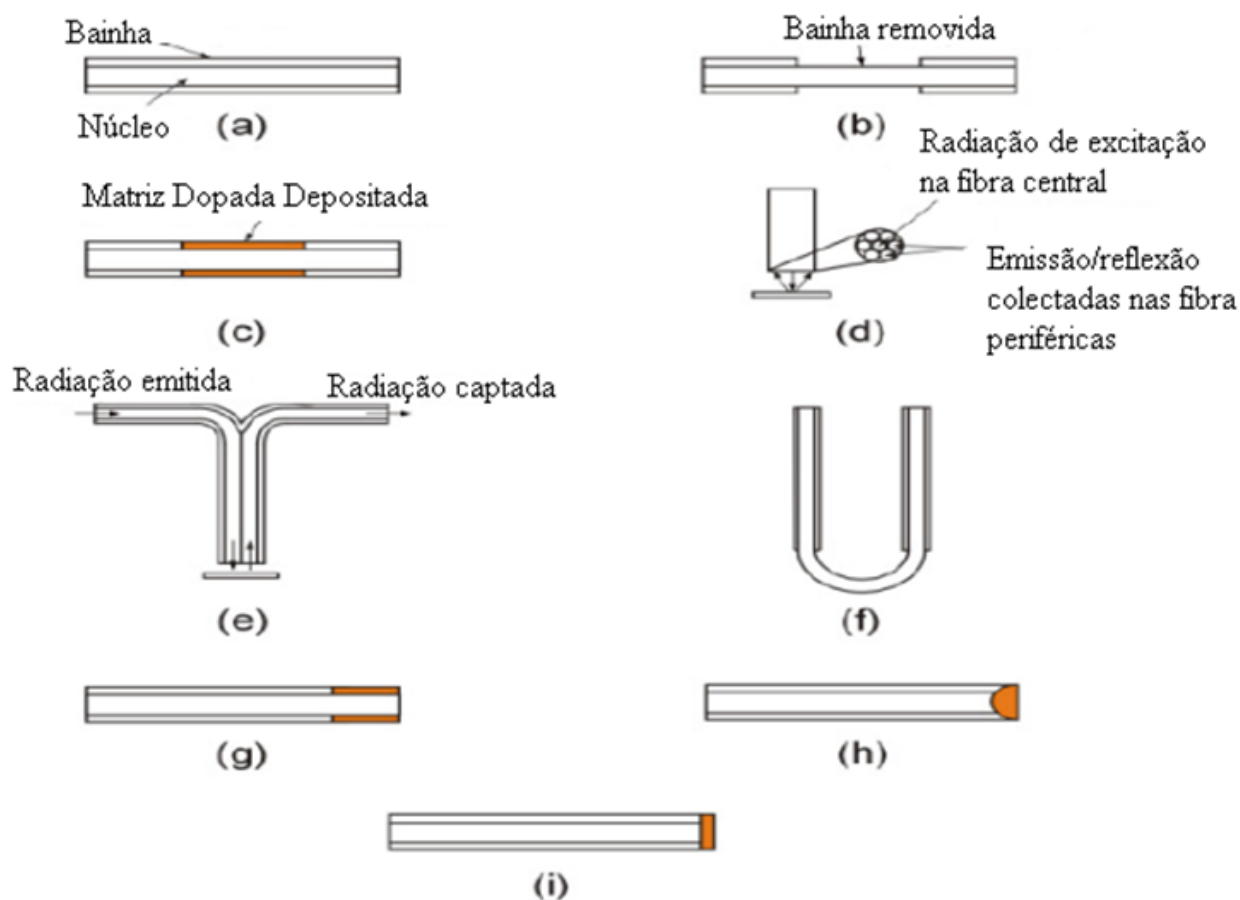


Figura 1: Configurações de fibras ópticas utilizadas em sensores químicos: a) fibra ótica, b) fibra ótica com bainha removida, c) fibra ótica com deposição lateral de camada sensível, d) transmissão de luz no terminal de um feixe de fibra ótica, e) feixe fibras bifurcadas, f) configuração em forma de U, g), h) e i) revestimento da ponta da fibra ótica com camada sensível, adaptado de [14].

1.1.1. Classificação dos sensores químicos de acordo com o papel da fibra ótica no desempenho do sensor

Os sensores químicos em fibra ótica são classificados de acordo com o papel que a fibra desempenha na operação do sensor em sensores ativos e passivos.

Num sensor químico em fibra ótica ativo ou intrínseco, o princípio de detecção é baseado na mudança das características de transmissão da radiação pela fibra, devido à mudança que

ocorre numa propriedade como o índice de refração ou de comprimento de onda com a interação com o analito. A própria fibra ótica apresenta características sensoriais.

Num sensor em fibra ótica passivo ou extrínseco, a resposta ótica não está ligada de qualquer modo a uma mudança intrínseca nas propriedades óticas da fibra, a qual serve apenas para transportar a radiação a partir da fonte para a amostra ou da amostra para a região de detecção [9, 8, 14].

1.2. Componentes de um sensor químico em fibra ótica

Os principais componentes de sensores químicos em fibra ótica são: a fonte de radiação, elementos óticos (fibra ótica), o fotodetector que transforma as propriedades óticas medidas num sinal elétrico e o sistema de processamento de dados.

1.2.1. Fonte de radiação

Uma parte integral de um sensor de fibra ótica é a fonte de radiação. A sua função principal é a de proporcionar uma radiação apropriada, a qual possui características tais como: uma potência ótica apropriada para interagir com um analito ou um indicador, e um comprimento de onda combinado com as propriedades espectrais dos sensores. Existe uma ampla gama de fontes de radiação utilizadas nos sensores químicos de fibra ótica. No entanto, elas diferem em propriedades espectrais e potência ótica.

De acordo com a largura de banda espectral das fontes de radiação, podem ser classificados em três grupos principais:

- Monocromático: (lasers, díodos laser);
- Pseudo-monocromático: LEDs;
- Contínuo: lâmpadas incandescentes, lâmpadas de arco.

As lâmpadas incandescentes e lâmpadas de descarga de gás são chamadas de fontes de radiação branca, porque emitem radiação numa ampla faixa espectral.

As lâmpadas de arco de xénon são uma das fontes contínuas mais utilizada em sensores químicos. Elas emitem radiação desde UV até infravermelho, mas são dispendiosas e a potência ótica não é muito estável.

Se um sensor necessitar de excitação apenas na faixa de UV, uma lâmpada de deutério é o mais aconselhável e dá melhores resultados, apesar de ter uma duração relativamente curta (1000-2000 horas) e ser bastante cara. As lâmpadas de halogéneo são as menos dispendiosas, possuem uma fonte de energia de alimentação relativamente simples, emitem sinais óticos estáveis e têm tempo de vida útil muito longo.

Uma das desvantagens comuns dessas fontes de radiação é a necessidade de utilizar um dispositivo de seleção de comprimento de onda tais como filtros de absorção, filtros de interferência ou monocromadores.

Com os filtros de absorção consegue-se obter um espectro com uma largura de banda de 50 nm, enquanto com os filtros de interferência se produz radiação mais monocromática (1 nm). No entanto, estes últimos apresentam uma elevada atenuação. Uma grande limitação dos filtros é que não é possível trabalhar com uma ampla faixa de comprimento de onda, pois não permitem a seleção contínua do comprimento de onda. Nestes casos os filtros são substituídos pelo monocromador.

Os díodos emissores de luz (LEDs) são fontes de radiação pseudo-monocromática com banda espectral de largura típica na gama de 20-50 nm. Os LEDs cobrem toda a gama visível desde 370 nm até à radiação infravermelha. As vantagens significativas dos LEDs em relação às outras fontes de radiação são o custo baixo, o tempo de vida útil longo (pode ultrapassar as 100 000 horas), e o seu tamanho reduzido.

Os díodos laser são fontes monocromáticas que apresentam uma banda espectral mais estreita que os LEDs, maior potência de emissão e uma menor dispersão angular da radiação. Como desvantagens são mais dispendiosos que os LEDs e mais dependentes da temperatura.

A radiação monocromática pode também ser obtida a partir de outros tipos de laser: estado sólido, líquido (utilizam corantes), gás, ou iões. Entre eles, o laser de iões de árgon que possui várias linhas espectrais, é uma fonte de radiação muito valiosa utilizada em diversos sensores. No entanto, estes tipos de laser são caros, a modulação da radiação não pode ser feita internamente e devem ser usados moduladores externos [15].

1.2.2. Fibras óticas

As fibras óticas, são capilares formadas por materiais dielétricos, na maioria dos casos de estruturas cilíndricas, com diâmetros que podem ir desde cerca de 1 μm até várias centenas de micrómetros. Os materiais mais vulgarmente utilizados na fabricação das fibras são plástico, vidro, e quartzo. A escolha do material depende da gama espectral da radiação a ser transmitida ao longo da fibra. Por exemplo, se a radiação que se pretende transmitir é visível, as fibras de vidro ou de plástico funcionam bem, enquanto para orientar a radiação UV, as fibras de sílica fundida ou de quartzo, que são mais caras, são as mais adequadas [9].

As fibras multimodo são as mais utilizadas em sensores óticos (cerca de 70 %), enquanto as fibras monomodo são utilizadas em apenas 5% dos sensores e os substratos planos são utilizados em 25 % dos casos [15].

1.2.3. Conectores

A atenuação da radiação transmitida num sistema de sensores não é causada apenas pela fibra, mas também pela forma como os componentes se encontram conectados. Neste sentido, torna-se relevante escolher as interconexões: componente (por exemplo fonte de radiação) para a fibra, conexão fibra para fibra, e fibra para o componente (por exemplo o fotodetector) [15]. Dependendo dos requisitos específicos, os conectores podem ser classificados em 3 tipos:

- Conectores desmontáveis: fibra para fibra, fibra para a fonte de luz e fibra para fotodetector;
- Juntas: junções permanentes entre duas fibras;
- Acopladores para a distribuição da luz entre as fibras.

As perdas intrínsecas resultam de fatores tais como: diferenças na geometria dos núcleos (diferentes diâmetros dos núcleos e revestimento, elipticidade dos núcleos, variações na concentricidade do núcleo em relação ao revestimento), diferenças de aberturas numéricas e as diferenças de perfil de índice de refração. Esses erros podem ser corrigidos por correspondência adequada de fibras conectadas ou pela utilização de elementos óticos adicionais [15].

Relativamente às perdas extrínsecas os principais fatores são o desalinhamento mecânico, que pode resultar de deslocamento lateral ou axial, o deslocamento ou separação longitudinal, o desalinhamento angular e a qualidade das superfícies das extremidades das fibras. Contrariamente às perdas intrínsecas, as perdas extrínsecas podem ser corrigidas por um alinhamento mecânico [15].

1.2.4. Fotodetectores

A principal função de um fotodetector no sensor de fibra ótica é a de converter um sinal ótico, transformando as informações sobre o analito num sinal elétrico [15].

Na escolha do fotodetector para sensores óticos, um certo número de fatores deve ser considerado. Estes incluem a sensibilidade, o nível de ruído inerente ao fotodetector, a resposta espectral, e o tempo de resposta. Fotomultiplicadores e fotodetectores quânticos semicondutores, como os fotocondutores e os fotodíodos, são ambos adequados. A escolha é, no entanto, um pouco dependente da região do comprimento de onda de interesse.

Normalmente, são usados dois fotodetectores em instrumentação ótica, porque é muitas vezes necessário incluir um fotodetector de referência separado para controlar as flutuações na intensidade e temperatura da fonte. Uma parte da radiação que não é afetada pela variável de medição é utilizada para corrigir quaisquer variações óticas no sistema de

medição. Tirando uma relação entre as duas leituras de detecção pode ser obtida uma medição mais precisa e estável [16] .

Os tubos fotomultiplicadores (PMT) são dispositivos muito sensíveis, capazes de detetar fótons individuais. O material utilizado para o fabrico do fotocátodo regula tanto a sensibilidade como a gama espectral do PMT. Os PMT típicos são feitos em forma de tubo de vidro, o que os torna mecanicamente frágeis e relativamente volumosos (embora haja algumas versões miniaturizadas). O intervalo de resposta linear de um PMT típico é de até cerca de quatro ordens de grandeza.

Os fotodetectores quânticos baseiam-se na utilização de um semiconductor. O dispositivo quântico mais comum é um fotodíodo semiconductor. O fotodíodo pin é um dispositivo compacto monolítico, e de dimensões mais reduzidas que o PMT. Uma das limitações dos fotodíodos pin é o ruído de base que é normalmente três ordens de magnitude mais alto do que o de um PMT.

Os fotodíodos de avalanche (APD) surgiram como um produto intermédio entre PMT e dispositivos semicondutores. Embora mais complexos que os fotodíodos semicondutores, o seu desempenho é superior [15].

1.3.Fibras óticas de plástico

Embora as fibras óticas de plásticos (POFs) já estejam disponíveis há algum tempo, só muito recentemente é que as POFs foram utilizadas como um meio de transmissão de radiação, de alta capacidade graças aos sucessivos melhoramentos na sua transparência e largura de banda. O material mais frequentemente utilizado no fabrico das POFs é o polímero termoplástico de poli(metacrilato de metilo) (PMMA) [17].

Os sistemas baseados em POFs apresentam várias vantagens em comparação com as fibras de vidro. Devido às suas grandes dimensões as POFs permitem o uso de conectores de baixa precisão, o que reduz o custo total associado de um sistema. As POFs podem ainda substituir os cabos de cobre em ligações de comunicação de curta distância, são de baixo peso e custo reduzido. Para além disso, as POFs, em comparação com as fibras de vidro

possuem maiores limites de deformação elástica (10%), maior flexibilidade e resistência a impactos e vibrações, bem como maior acoplamento da radiação a partir da fonte de radiação para a fibra [17-19].

Por outro lado as POFs, também apresentam algumas desvantagens. Possuem maiores coeficientes de atenuação do que as fibras de vidro e são incapazes de operar a altas temperaturas, sendo que o limite de temperatura de operação para uma POF varia de 80 °C a 100 °C. Acima desses valores, as POFs começam a perder sua rigidez e transparência. No entanto, o limite de temperatura pode ser aumentado para 125-135 °C com o uso de um polietileno modificado ou um elastômero com revestimento de poliolefina [17]. Além disso existem poucos fabricantes de POFs, a produção é limitada e há falta a normalização.

1.3.1. Estrutura das fibras óticas de plástico

As POFs são guias de ondas altamente flexíveis compostas de materiais dielétricos quase transparentes. O corte transversal destas fibras é circular e, geralmente, dividido em três camadas, com se mostra na Figura 2, onde se pode ver o núcleo (*core*), a bainha (*cladding*) e o revestimento (*jacket*) que confere proteção mecânica à fibra ótica. O polietileno é o polímero mais utilizado para o processamento do revestimento da fibra, mas o polietileno clorado e o poli(cloreto de vinilo) também têm sido utilizados [18].

O raio de um núcleo geralmente varia entre 125 e 490 μm . A maior parte da radiação propaga-se ao longo do núcleo com índice de refração n_{co} , pelo facto da bainha apresentar um índice de refração n_{cl} inferior. Os valores típicos para os índices de refração do núcleo e da bainha para a fibra ótica de plástico de PMMA com perfil de índice em degrau são respetivamente 1.492 e 1.417 [18].

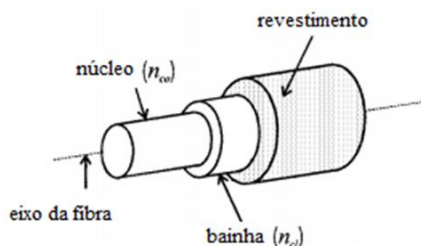


Figura 2: Estrutura de uma fibra ótica de plástico, adaptado de [18].

1.3.2. Abertura numérica de POFs

A abertura numérica, NA, é um parâmetro muito importante da fibra ótica, uma vez que define a sua capacidade de captação luminosa. A capacidade de uma fibra de captar a radiação depende do ângulo de abertura do cone de aceitação. O seno do ângulo de abertura deste cone é chamado de abertura numérica (NA), e é dada por:

$$NA = \sin \Theta_{max} = \sqrt{n_{c0}^2 - n_{cL}^2}$$

Onde n_{c0} é o índice de refração do núcleo e n_{cL} o índice de refração da bainha. A Figura 3 mostra a definição de abertura numérica de uma fibra ótica de plástico.

A abertura numérica de uma POF típica é muito grande em relação às fibras de vidro, cerca de 0,5, o que facilita o acoplamento da radiação na fibra [17]. Há também POFs com uma abertura numérica reduzida, que são utilizadas para obter velocidades de transmissão mais altas. Quanto mais baixa for a abertura numérica, maior é a largura de banda, porque a dispersão modal diminui, uma vez que menos modos se irão propagar através da fibra. No que diz respeito aos emissores e detetores, estes também têm a sua abertura numérica, dependendo dos ângulos de emissão e receção. É especialmente importante fazer coincidir as aberturas numéricas da fibra ótica e da fonte de radiação, de modo a acoplar a potência de emissão para a fibra de forma eficiente [18].

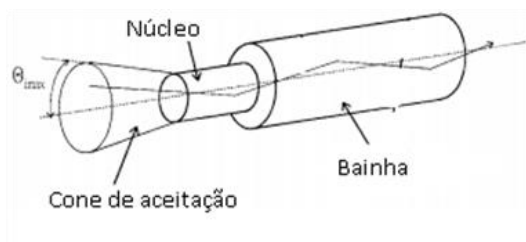


Figura 3: Definição de abertura numérica de uma POF, adaptado de [18].

1.3.3. Curva de atenuação espectral das fibras óticas plásticas de PMMA

A atenuação representa as perdas óticas causadas por absorção ou dispersão da radiação guiada através da unidade de comprimento da fibra. É dada por:

$$\alpha = \frac{10}{L} \times \log \left(\frac{P_0}{P} \right)$$

Onde, P_0 é a potência ótica de entrada, P é a potência ótica de saída e L é o comprimento da fibra [18, 20].

A atenuação depende do diâmetro do núcleo da fibra, uma vez que aumenta à medida que diminui o diâmetro do núcleo. A atenuação a 570 nm é de 70 dB/Km para POF PMMA de diâmetro 0,5 mm e 130 dB/Km para PMMA de 0,25 mm de diâmetro. Este comportamento é devido ao maior número de imperfeições geométricas e estruturais das fibras de diâmetros menores. Outros fatores que afetam a atenuação são a largura espectral e a abertura numérica (NA) da fonte de radiação utilizada. Um aumento na largura espectral ou de NA da fonte dá origem a maior atenuação. Por exemplo, a atenuação de uma POF PMMA é de apenas 70 dB/Km quando o NA é 0,1, e 88 dB/Km quando o NA é de 0,65 [18]. A POF PMMA tem a melhor janela de transmissão situada em torno de 570 nm, com atenuação abaixo de 100 dB/Km. Devido ao custo e a eficiência dos LED de 660 nm é usualmente utilizada a janela centrada em 650 nm das POFs (150 dB/km).

A Figura 4 mostra a atenuação espectral das POFs PMMA.

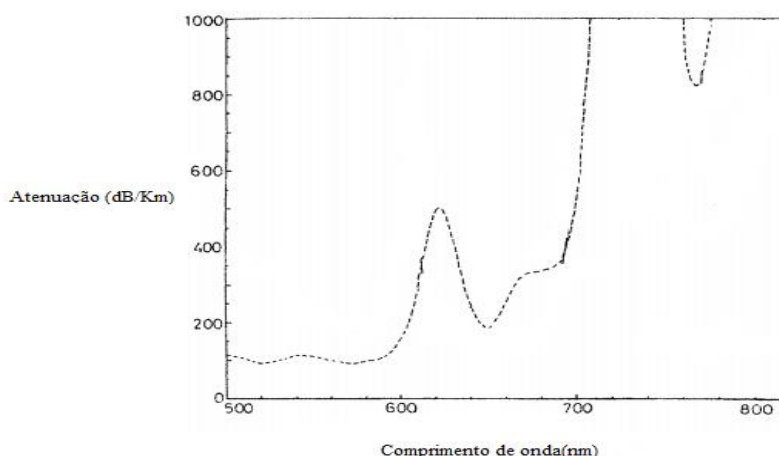


Figura 4: Atenuação espectral das fibras óticas de plástico com núcleo de PMMA, adaptado de [18].

2. Estado da arte: sensores óticos para a análise do ião amónio

Atualmente tem-se verificado um aumento nos estudos sobre os sensores químicos óticos para a deteção de amoníaco, sendo que a maioria dos trabalhos feitos até agora se referem à medição do amoníaco gasoso [21].

Os sensores óticos de amoníaco empregam indicadores colorimétricos e fluorométricos de pH, ionóforos seletivos a amónio e indicadores baseados em emparelhamentos iónicos [22].

Relativamente aos métodos de medição de amoníaco gasoso baseado em medição de pH é feito incorporando um indicador de pH numa membrana permeável a gases e posicionada na extremidade de uma fibra ótica. A penetração do amoníaco provoca uma alteração do pH, que resulta numa mudança de cor ou fluorescência do corante indicador [21, 23].

Um parâmetro crítico para a deteção de amoníaco (e deteção de gás em geral) quando se usa uma membrana é a permeabilidade e seletividade da permeação do polímero utilizado. Os silicones, o teflon e o poli(cloreto de vinilo), são considerados um bom compromisso devido à sua elevada permeabilidade para o amoníaco e à sua impermeabilidade aos iões. Os materiais tais como a celulose e o poli(acetato de vinilo) também têm sido utilizados como polímeros para os sensores de amoníaco, mas são menos permeáveis ao gás [22].

M. Trinkel et al. [21] demonstraram a viabilidade de um sensor ótico para amoníaco com base no emparelhamento iónico para amostras aquosas. O corante azul de bromofenol foi imobilizado como um par iónico com cetiltrimetilamónio numa matriz de silicone. A gama de medição foi de 6×10^{-7} a 1×10^{-3} M (0,01-17 µg/ml) em tampão de fosfato de sódio, 0,1 M a pH 8. Os tempos de resposta de 90% e 100%, com um caudal de $2,5 \text{ ml min}^{-1}$ foram de 4 min e 10 min, para variações de concentrações de amoníaco de 41,9 a 82,5 µM, e de 12 min e 48 min para concentrações de amoníaco de 160 a 0 µM, respetivamente. Um deslocamento contínuo da linha de base do sinal e sensibilidade do amoníaco limita a estabilidade medida. O sensor apresenta um tempo de vida reduzido e verificou-se que o seu desempenho é afetado por aminas e detergentes catiónicos [21].

Strömberg et Hult. [24] desenvolveram um sensor ótico de fluorescência para determinar a concentração do íon amônio em amostras aquosas. O princípio de detecção baseou-se na co-extração de um complexo de nonactina-amônio e o corante merocianina 540 numa emulsão de hidrogel e éter. O sensor foi testado quanto à sua seletividade para o íon amônio em comparação com outros solutos, dependência da força iônica e pH, onde se verificou que ocorre interferências de K^+ e H^+ , sendo que o mecanismo de detecção foi razoavelmente independente do pH no intervalo de 6,0 a 7,8.

O coeficiente de seletividade para o íon amônio em relação ao íon potássio foi estimado em 7×10^{-2} , com tempo de resposta curto (da ordem de poucos minutos, ou menos), grande alcance dinâmico (10 μ M-100 mM) e uma repetibilidade de cerca de 10% em 1 mM de NH_4^+ . O sensor apresenta um tempo de vida útil no mínimo de 8 meses [24].

Jalal et al. [25] apresentaram o fabrico e a calibração de um sensor de campo evanescente em fibra ótica de plástico (POF) para a detecção do amoníaco em meio aquoso. A fibra ótica consistia num núcleo de PMMA com espessura de 960 μ m e bainha de polímero fluorado de 40 μ m. O processo de fabricação do sensor consistiu em remover a bainha da fibra por ataque químico a fim de depositar perclorato de oxazina 170 (material de detecção) com uma camada protetora de PDMS (poli (dimetilsiloxano)), dado que a oxazina é solúvel em água. De acordo com os resultados experimentais obtidos para a detecção do amoníaco, o tempo de resposta foi instantâneo (máximo de 10 s), limite de detecção baixo, o sensor exibiu alta sensibilidade, e boa reversibilidade (mais de 99%) [25].

Absalan et al. [26] desenvolveram um sensor ótico para a detecção do amoníaco em água usando o complexo tetrafenilborato de bis (acetilacetona etilenodiamina) tributilfosfina de cobalto (III) revestido por uma membrana transparente de triacetilcelulose. A mudança na absorvência do sensor ao comprimento de onda de 408 nm, foi relacionada com a concentração do amoníaco em amostras aquosas. A gama de resposta linear para a determinação do amoníaco foi de $3,3 \times 10^{-4}$ a $6,9 \times 10^{-3}$ mol/L, o tempo de resposta de 4 a 6 min, com um limite de detecção de 5×10^{-5} M [26].

Pisco et al. [2] apresentaram um sensor químico em fibra ótica com revestimento baseado em dióxido de estanho para a detecção do amoníaco a nível do ppm na água. Os filmes de

dióxido de estanho foram depositados na ponta distal das fibras óticas, por meio da técnica de pirólise de pulverização electroestática.

O princípio de funcionamento do sensor baseou-se na medição da intensidade de luz refletida pela interface da camada sensível da fibra e a caracterização dos espectros foi feita na gama de 400-1750 nm. O sensor apresentou alta sensibilidade ao amoníaco, com tempos de resposta aproximadamente de 10-20 minutos, e um limite de deteção a nível de ppm [2].

3. Funcionalização da fibra ótica

As fibras óticas utilizadas neste trabalho eram de poli(metacrilato de metilo) e foi necessário modificá-las quimicamente por forma a torná-las capazes de interagir com o ião amônio. Essa interação foi conseguida por enxertia de um polímero molecularmente impresso.

3.1. Polímero molecularmente impresso

A impressão molecular é uma técnica para sintetizar polímeros altamente reticulados, dotados de sítios específicos de reconhecimento para uma dada molécula molde, sendo esta o próprio analito ou um composto de estrutura semelhante. Os polímeros obtidos por este processo são designados por polímeros molecularmente impressos (PMIs) [27, 28].

Na impressão molecular, um monómero funcional e um agente de reticulação são copolimerizados, geralmente através de um mecanismo de polimerização radicalar livre, na presença de uma molécula alvo que atua como molécula molde [29, 30].

A representação típica do processo de impressão molecular é mostrada na Figura 5 [29,31].

Os monómeros funcionais inicialmente formam um complexo com as moléculas molde via ligações covalentes ou não covalentes. Posteriormente ocorre a polimerização radical térmica ou via processos fotoquímicos com clivagem do iniciador dando origem a radicais livres. Com a geração de radicais livres inicia-se a polimerização dos monómeros funcionais com o agente de reticulação, resultando numa "congelamento" da molécula molde dentro da rede de polímero tridimensional [32, 33].

Após o processo de polimerização, a molécula molde é removida do polímero por meio de um solvente ou clivagem química e deixa locais de reconhecimento específicos complementares em tamanho, forma e a funcionalidade química com a molécula molde [28, 12].

Os PMIs apresentam alta resistência física e química contra fatores agressivos externos, sendo que são extremamente estáveis as tensões mecânicas, altas temperaturas e pressões e

também numa vasta gama de solventes [29]. Os PMIs como elemento de reconhecimento sintético de sensores químicos apresentam outras vantagens tais como baixo custo, facilidade de preparação e a possibilidade de preparar polímeros para o reconhecimento de uma vasta gama de compostos tais como: iões inorgânicos, compostos orgânicos, anticorpos, proteínas e células [30, 34-36].

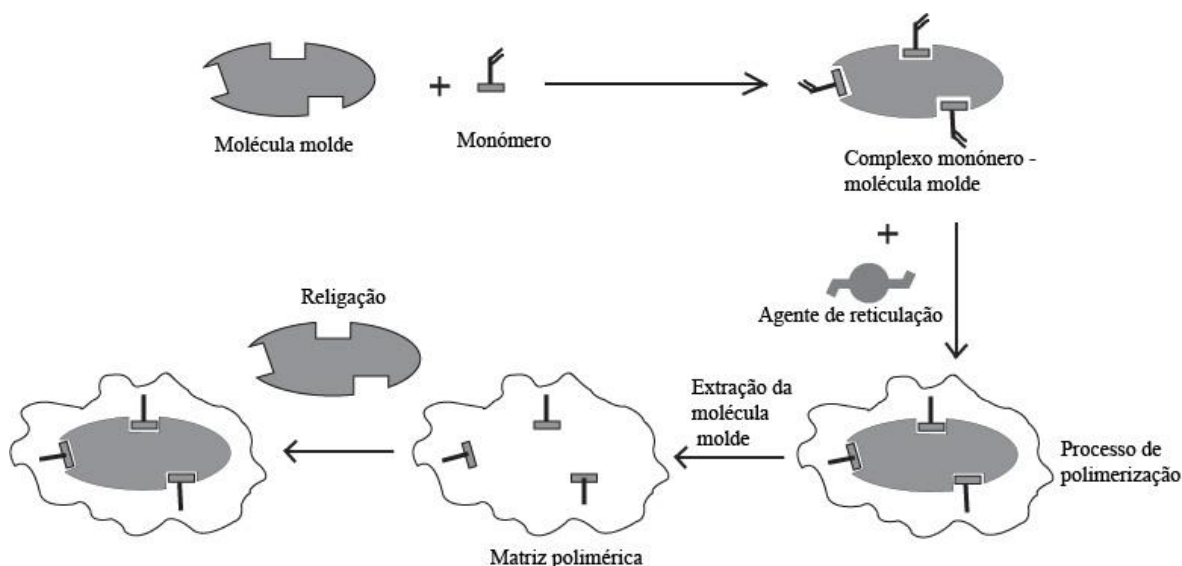


Figura 5: Esquema ilustrativo da síntese do polímero molecularmente impresso e posterior religação do analito, adaptado de [31].

3.2. Interação da molécula molde com o monómero e o polímero impresso

Existem três principais métodos para o processo de impressão molecular: 1) método covalente que se baseia em ligações covalentes reversíveis entre as moléculas de impressão (moldes) e os monómeros funcionais e que foi introduzida por Wulff [30], 2) método não covalente que se baseia em ligações não covalentes entre as moléculas de impressão e monómeros funcionais proposto por Mosbach [30], 3) método semicovalente que combina as vantagens dos métodos covalente e não covalente [30].

A abordagem de impressão não covalente é a técnica mais utilizada para a preparação de PMIs. Neste processo, o complexo entre a molécula molde e o monómero funcional é

formado por interações não covalentes, tais como ligações de hidrogénio, forças electrostáticas, forças de van der Waals ou interações hidrofóbicas. Além disso, a religação das moléculas molde com PMIs é também realizada pelas mesmas interações não-covalentes. Existem várias vantagens nesta técnica, incluindo a fácil remoção da molécula molde do polímero, geralmente feita por extração com solvente, a rápida ligação da molécula molde aos PMIs e o seu potencial de aplicação para uma ampla gama de moléculas molde. Por outro lado uma limitação desta técnica é a geração de sítios de ligações heterogéneos, devido às interações relativamente fracas envolvidas [31,37].

Na abordagem de impressão covalente um complexo estável entre o monómero funcional e a molécula molde é formado por ligação covalente antes da polimerização. Após a polimerização, a ligação covalente é clivada e a molécula molde é removida do polímero e a religação dá-se através das mesmas interações covalentes. Devido à maior estabilidade das ligações covalentes, estas proporcionam sítios de ligações mais homogéneos, no entanto a religação é mais lenta devido à necessidade de formação de ligação covalente entre a molécula molde e o PMIs. Por outro lado, existem poucas moléculas molde adequadas para a impressão covalente devido à natureza destas ligações e, muitas vezes um processo de hidrólise ácida é necessário para clivar as ligações covalentes entre a molécula molde e o monómero funcional [31, 37-39].

Na abordagem semicovalente a molécula molde liga-se covalentemente ao monómero funcional, tal como na abordagem covalente, mas a religação da molécula molde ao polímero baseia-se em interações não covalentes. As vantagens deste método são elevadas afinidade das ligações covalentes como as condições operacionais simples de religação não covalente [37, 39].

3.3. Parâmetros experimentais que influenciam o processo de síntese de polímero molecularmente impresso

A reação de polimerização é conhecida como um processo muito complexo, que pode ser afetada por diversos fatores, tais como o tipo e concentração do monómero, do agente de reticulação e do iniciador, a temperatura, o tempo de polimerização e a pressão. A fim de se obter o polímero impresso com características adequadas, uma variedade de fatores deve ser otimizada e a seleção de reagentes apropriados é um passo crucial no processo de impressão molecular [39].

3.3.1. Monómero funcional

O papel do monómero no processo de impressão molecular é a de fornecer grupos funcionais que podem formar um complexo com a molécula molde por interações covalentes ou não covalentes.

Para a impressão molecular covalente, não é necessário otimizar a razão entre a quantidade de molécula molde em relação ao monómero funcional porque a molécula molde determina o número de monómero funcional que pode ser ligado de forma covalente, e os monómeros funcionais estão ligados de uma forma estequiométrica. Para a impressão não-covalente, os monómeros são normalmente utilizados em excesso em relação à molécula molde de modo a favorecer a formação do complexo monómero-molécula molde [38]. Em termos de concentração, o mais indicado é que o monómero funcional esteja em quantidade superior à molécula molde (normalmente 4:1-razões molares), garantindo, assim, o deslocamento do equilíbrio no sentido da formação do maior número possível de sítios específicos [40, 41].

A força das interações entre a molécula molde e o monómero afeta a afinidade dos PMIs e determina a seletividade dos sítios de reconhecimento. Quanto mais forte for a interação, mais estável é o complexo, resultando numa capacidade de ligação mais elevada dos PMIs. Neste sentido a escolha correta dos monómeros funcionais é muito importante [38, 42]. Os monómeros normalmente utilizados para a impressão molecular incluem o ácido

metacrílico, o ácido acrílico, a 2- ou 4-vinilpiridina, a acrilamida, o ácido trifluorometacrílico e o 2-hidroxietilmetacrilato [28]. O ácido metacrílico tem sido usado como monómero funcional universal uma vez que tem possibilidade de formar ligações de hidrogénio, e apresenta boa adequabilidade para estabelecer ligações de natureza iónica devido à presença de grupos ionizáveis (COOH) [27, 28, 31].

3.3.2. Agente de reticulação

O agente de reticulação é responsável pelo controlo da morfologia dos PMIs, além da estabilização dos sítios de ligação e da estrutura mecânica do polímero [38, 39, 40]. A seletividade e a capacidade de ligações dos PMIs são extremamente influenciadas pelo tipo e quantidade de agente de reticulação usado na síntese do polímero impresso.

Altas proporções de agente de reticulação são geralmente preferidas, no sentido de obter materiais porosos e mecanicamente estáveis [39][38]. Isto porque o elevado grau de reticulação permite manter a microcavidade da estrutura tridimensional com a forma e funcionalidade complementar à molécula molde após a remoção da mesma. Portanto os grupos funcionais são mantidos numa configuração ótima para religar a molécula molde permitindo ao recetor o reconhecimento do substrato original [38]. Por norma, os polímeros com razões de reticulações em relação ao monómero superiores a 80% são preferíveis [40].

O dimetacrilato de etilenoglicol (EDMA) é o agente de reticulação mais frequentemente utilizado, principalmente em sistemas baseados em metacrilato, devido à sua capacidade de formar polímeros térmica e mecanicamente estáveis e por possibilitar uma rápida transferência de massa durante a síntese [41]. Outros agentes de reticulação comumente usados incluem o trimetacrilato de trimetilolpropano, a N,N-metilenobisacrilamida e o divinilbenzeno [39].

3.3.3. Solvente de polimerização

A natureza do solvente porogénico determina a intensidade das interações não covalentes e influencia a morfologia do polímero, afetando diretamente o desempenho dos PMIs.

O principal papel do solvente no processo de polimerização é o de misturar os componentes (monómero, molécula molde, iniciador e agente de reticulação) numa única fase, sendo ainda responsável por formar poros nos polímeros macroporosos. O solvente deve produzir grandes poros para assegurar boas propriedades de fluxo por meio dos PMIs resultante [28].

O solvente porogénico deverá ter baixa polaridade, a fim de reduzir as interferências durante a formação do complexo entre a molécula molde e o monómero, contribuindo deste modo para obter PMIs com alta seletividade. Neste sentido os solventes orgânicos apróticos e apolares, tais como o tolueno ou clorofórmio são frequentemente utilizados em processos de polimerização não-covalentes (estabilizadores de ligações de hidrogénio), a fim de se obter uma boa eficiência de impressão [28].

Quando as forças hidrofóbicas são usadas para conduzir a formação do complexo entre a molécula molde e o monómero funcional a água pode ser uma boa escolha como solvente [39, 38].

3.3.4. Iniciador radicalar

Muitos iniciadores com propriedades químicas diferentes podem ser usados como fonte de radicais na polimerização radicalar. Normalmente, eles são utilizados em níveis baixos em comparação com o monómero, por exemplo, 1% em mole em relação ao número total de moles de ligações duplas polimerizáveis. A taxa e o modo de decomposição de um iniciador em radicais podem ser controlados via processos fotoquímicos ou termólise [38].

Estudos realizados por Mijangos et al. [43] mostraram que os PMIs mais rígidos obtidos com altas concentrações de iniciador e longo tempo de polimerização apresentavam efeitos

negativos sobre o desempenho do polímero. Sabe-se também que quando foi utilizada baixa concentração do iniciador, menor era a temperatura gerada durante o processo de polimerização e a rigidez alcançada após longo tempo de polimerização teve um impacto benéfico. Isto é devido ao facto de que as elevadas temperaturas atingidas com concentrações elevadas de iniciador afetarem o complexo formado entre o monómero funcional e a molécula molde, reduzindo a afinidade e a seletividade do PMIs.

Mijangos et al. [43] relataram ainda que os PMIs devem ser sintetizados por um longo período de tempo, utilizando baixa concentração de iniciador e baixa temperatura [43].

3.3.5. Pressão

A pressão é um outro parâmetro importante na síntese de polímero molecularmente impresso, no entanto muito poucos trabalhos têm sido feitos relativamente à análise do papel da pressão sobre o desempenho dos PMIs. Os efeitos de pressão sobre as associações moleculares são geralmente pequenos e consideravelmente menores do que os efeitos da temperatura e do solvente [44].

Sellergren et al. [44] estudaram o efeito da pressão sobre a seletividade de PMIs de acordo com a tendência de associação do monómero-molécula molde e a morfologia do polímero e constataram que as impressões moleculares a pressões mais elevadas resultavam em melhores retenções da molécula molde e maior afinidade em comparação com os polímeros correspondentes preparados à pressão ambiente, provavelmente devido à maior estabilização do complexo monómero-molécula molde [44].

Piletska et al. [45] realizaram um estudo sobre o efeito da pressão de polimerização e do inchamento do polímero no desempenho dos PMIs, tendo verificado que a pressão da polimerização desempenhava um papel importante, embora indireto, na morfologia e desempenho dos materiais sintetizados. No entanto, a polimerização a pressões elevadas gera polímeros mais rígidos com formas mais definidas de cavidades de impressão induzindo a maior especificidade [45] .

3.3.6. Temperatura

A temperatura de polimerização afeta a afinidade e especificidade de PMIs. Vários estudos têm mostrado que a polimerização de PMIs a temperaturas mais baixas forma polímeros com maior seletividade em relação aos polímeros obtidos a temperaturas elevadas. Também se constatou que temperaturas relativamente altas têm um impacto negativo sobre a estabilidade do complexo entre o monómero funcional e a molécula molde. Assim, as temperaturas relativamente baixas, com um tempo de reação prolongado são preferíveis de modo a obter-se uma polimerização mais reprodutível, dando origem aos PMIs com maiores números e qualidade de sítios de ligação. Normalmente quando o complexo é formado por ligações de hidrogénio, as temperaturas mais baixas de polimerização são preferíveis e sob tais circunstâncias, iniciadores fotoquimicamente ativos podem também ser preferíveis uma vez que estes podem funcionar de forma eficiente a uma temperatura baixa [38].

3.3.7. Tempo de polimerização

Dos estudos feitos até à data, é admitido que, independentemente do processo de iniciação empregado na polimerização, com prolongado tempo de polimerização, obtém-se maior grau de conversão na reação de polimerização [45].

Piletska et al. [45] confirmaram que o tempo de polimerização desempenha um papel importante na determinação da morfologia e do desempenho dos materiais sintetizados. O aumento do tempo de polimerização aumenta a rigidez da estrutura do polímero e facilita a formação de cavidades de impressão molecular com formas mais definidas, resultando em PMIs com maior especificidade [45]. Por outro lado, os polímeros mais rígidos podem ter a transferência de massa dificultada e ter cinéticas de ligação mais lentas. O balanço entre a rigidez das cavidades de impressão em relação à flexibilidade e adaptabilidade do polímero permanece ainda mal compreendido [45].

3.4. Métodos de síntese de polímero molecularmente impresso

A polimerização em massa é uma das técnicas mais comuns para a síntese dos PMIs em que a reação é realizada numa solução contendo monómero, molécula molde, solvente porogénico, agente de reticulação e iniciador radicalar em ausência de oxigênio. Após a polimerização, o polímero sólido é triturado e peneirado com a finalidade de obter partículas de tamanhos desejados [12, 28, 38, 46].

Apesar de ser um método simples, que não requer equipamentos sofisticados, a polimerização em massa apresenta muitas desvantagens. As partículas obtidas são de tamanhos e forma irregulares, é necessário elevado consumo de moléculas molde, alguns sítios de interação são destruídos durante a trituração, o que provoca um impacto negativo sobre o desempenho e a capacidade de ligação dos PMIs à molécula molde [11, 28, 38].

Para superar esses problemas, métodos alternativos para preparar os PMIs tais como a polimerização por precipitação e em suspensão foram utilizados. O método de polimerização por precipitação permite evitar a formação de uma matriz polimérica rígida e consequentes etapas de trituração, por utilização de volumes superiores de solventes porogénicos [46]. Apesar de ser um método menos demorado que a polimerização em massa, e produzir as partículas com tamanhos mais uniformes e rendimentos mais altos, uma grande quantidade de molécula molde é necessária para o processo de preparação, devido ao elevado fator de diluição [28, 38].

A polimerização em suspensão é um método simples e o mais comum para a produção de partículas uniformes de PMIs. O método convencional de suspensão utiliza uma mistura de solvente orgânico contendo o monómero funcional, agente de reticulação e iniciador, e a fase aquosa que contém o estabilizador de suspensão. Neste processo o papel do agente estabilizador é evitar a coagulação das gotas dos monómeros durante o processo, o que faz com que o polímero seja produzido no formato de esferas. Contudo este método conduz à formação de partículas com amplas distribuições de tamanhos [47]. Para além disso os PMIs obtidos apresentam baixa capacidade de reconhecimento molecular porque a água utilizada como uma fase contínua tem um efeito negativo sobre a formação do complexo entre a molécula molde e o monómero funcional formado por interações não covalentes [38, 47].

O método de polimerização em suspensão em perfluorocarbono líquido como fase contínua também foi utilizada, mas também tem a desvantagem do perfluorocarbono líquido ser caro [38, 12]. Embora com esta técnica tivesse havido melhorias no rendimento do processo em relação à polimerização em massa, esta técnica não levou a melhorias significativas na eficiência do reconhecimento molecular ou propriedades cinéticas do polímero [11, 12].

Para as aplicações sensoriais, será vantajoso usar um método de impressão superficial sobre o suporte sólido denominado por polimerização por enxertia onde o polímero é integrado diretamente na superfície do transdutor [12].

3.4.1. Síntese de polímero impresso por enxertia

A polimerização por enxertia é um método em que os monómeros são ligados covalentemente na superfície sólida [48].

Relativamente ao polímero molecularmente impresso quando se utiliza o processo de enxertia inicialmente o iniciador é imobilizado na superfície do suporte sólido, posteriormente o monómero interage com a molécula molde e finalmente sofre ligações de reticulação para formar o polímero na superfície do suporte sólido. Consequentemente é gerado um grande número de cavidades gravadas distribuídas no interior da camada fina de polímero enxertado na superfície sólida [12,30, 46].

Comparados com os PMIs obtidos por polimerização em massa, precipitação e suspensão, os polímeros impressos por enxertia facilitam a integração do material de reconhecimento no sensor, pois permitem uma transferência de massa mais rápida e boa cinética de ligação [11, 12].

Relativamente ao processo de polimerização por enxertia, há que ter em conta o controlo de parâmetros de síntese tais como: monómero, solvente, iniciador, temperatura, etc.

O processo de enxertia depende da estabilidade do radical polimérico que se forma a partir do monómero. Os radicais poliméricos mais estáveis resultam numa baixa eficiência de enxerto, uma vez que são menos reativos [48].

A solubilidade do monómero no solvente também afeta a enxertia. Quanto mais solúvel for o monómero no solvente, produz maior enxerto devido à sua maior acessibilidade aos sítios ativos. A eficiência de enxerto aumenta com a concentração do monómero até um certo ponto e depois diminui com o aumento da concentração (acelera a reação de homopolimerização em vez de enxertia).

A escolha do solvente no processo de enxertia depende de vários fatores tais como solubilidade do monómero, propriedades de inchamento do suporte sólido, geração de radicais livres na presença de solvente. O solvente deve inchar o suporte sólido de forma eficaz de modo que o monómero se possa facilmente difundir no suporte de enxerto [48].

A taxa de enxertia é também dependente da concentração do iniciador. Os radicais livres formados pela dissociação do iniciador participam diretamente na iniciação de enxertia. Atingindo uma certa concentração do iniciador, os níveis mais elevados de iniciador não aumentam a conversão do monómero enxertado, a abundância dos radicais que se vão formar participam na reação de terminação da cadeia do polímero em crescimento [48].

4. Materiais e métodos

4.1. Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados no decorrer deste trabalho foram: ácido metacrílico (MAA) (Aldrich, 99%, STBB0035L9), dihidrocloreto de 2,2'-azobis [2-metilpropionamidina] (AAPH) (Aldrich, 97%, 101268336), dimetacrilato de etilenoglicol (EDMA) (Aldrich, 98%, 3589PJ080), hidróxido de sódio (Panreac, 98%, 131687.1211), cloreto de amônio (Merck, pa, 8564623), etanol (Merck, pa, 1.00983.2511), 2-propanol (Merck, pa, 1.09634.2511), e ácido bórico (Mayer Baker, pa).

4.2. Fibra ótica

As fibras óticas utilizadas no desenvolvimento do sensor foram fibras microestruturadas de poli(metacrilato de metilo) (PMMA) fornecida pela Kiriama Pty Ltd: uma fibra monomodo (Figura 6) com um diâmetro total de 320 μm e diâmetro do núcleo de 8 μm segundo o fabricante, sendo o experimental de 304,6 $\mu\text{m} \pm 0,3 \mu\text{m}$ e uma fibra multimodo (Figura 7) com diâmetro do núcleo de 50 μm e diâmetro total experimental de 141,8 $\mu\text{m} \pm 0,2 \mu\text{m}$.

Single-mode fibre, 320 μm diameter
Material: PMMA
Length: 5 m

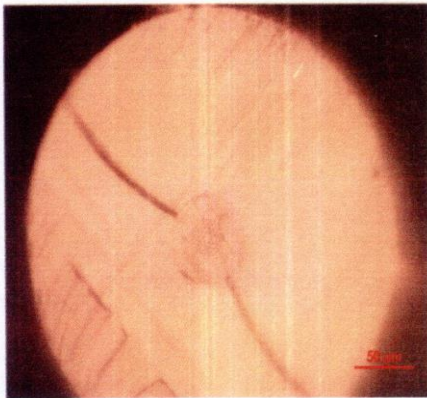


Figura 6: Imagem da fibra PMMA monomodo.

Multimode fibre, 50 μm core diameter
Material: PMMA
Length: 10 m

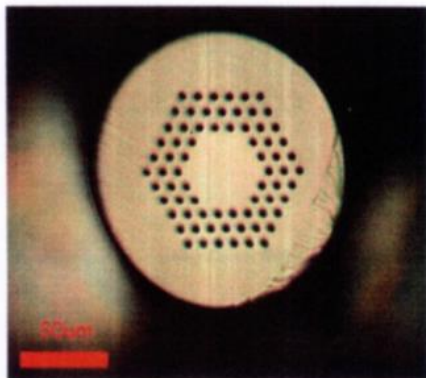


Figura 7: Imagem da fibra PMMA multimodo.

4.3. Estabilidade da fibra em contacto com diversos solventes

Para o revestimento do sensor precisou-se arranjar o solvente adequado para a síntese do polímero na fibra, aquele que não degradasse a fibra. Neste sentido procedeu-se ao teste de solubilidade do PMMA em alguns solventes nomeadamente acetonitrilo e etanol. Testaram-se soluções de etanol puro e misturas etanol/água nas proporções (20/80) % e (50/50) %.

O teste foi realizado deixando as fibras de PMMA nas respetivas soluções durante algumas horas. Foram feitas pesagens das fibras secas, antes e depois de terem ficado em contacto com os respetivos solventes.

4.4. Escolha do iniciador para a polimerização

Para o processo de polimerização foram inicialmente selecionados dois iniciadores, o 4'4'-azobis- (4-acido cianovalérico) (Figura 8) que se decompõe a 70 °C e o dihidrocloreto de 2,2'-azobis (2-metilpropionamida) (Figura 9) que se decompõe a 57 °C.

Para escolher o melhor iniciador para a polimerização foi necessário testar a solubilidade da fibra à temperatura de decomposição desses iniciadores, nos solventes que mostraram não danificar a fibra à temperatura ambiente. Para isso, a fibra foi colocada em misturas etanol/água durante 2 horas à temperatura de 70 °C e de 57 °C.

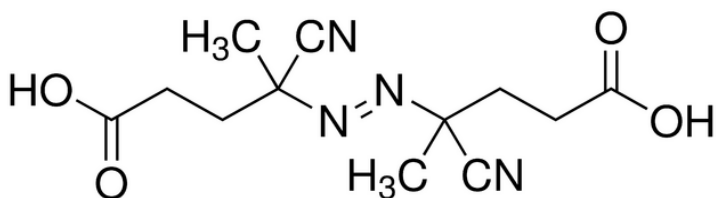


Figura 8: Estrutura química do 4'4'-azobis- (4-ácido cianovalérico).

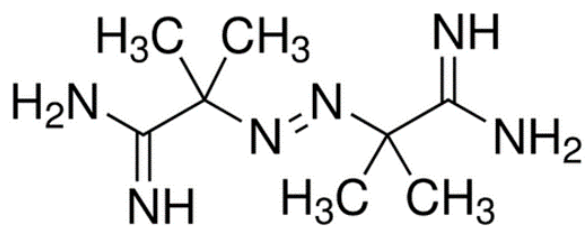


Figura 9: Estrutura química do dihidrocloreto de 2,2'-azobis (2-metilpropionamidina).

4.5. Preparação das fibras e imobilização do iniciador, dihidrocloreto de 2,2'-azobis (2-metilpropionamidina) na superfície da fibra de PMMA

- 1- Primeiramente procedeu-se ao corte transversal da fibra ótica, conforme o comprimento selecionado para a análise. Para tal foram utilizadas uma lâmina de vidro para servir de base e uma lâmina de barbear previamente aquecida a 60 °C conforme a Figura 10 e Figura 11, temperatura à qual é possível manusear a fibra sem a danificar;



Figura 10: Procedimento para aquecimento da lâmina a 60 °C.

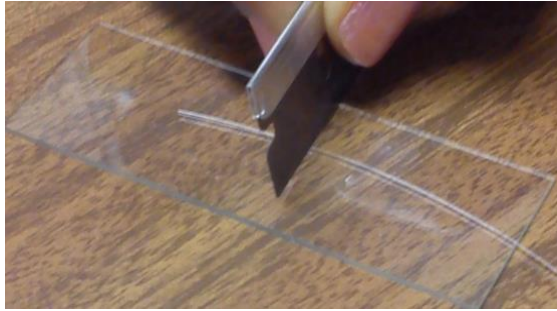


Figura 11: Corte da fibra com lâmina de vidro e lâmina de barbear.

- 2- Seguidamente a fibra foi lavada com isopropanol à temperatura ambiente;
- 3- Depois colocou-se a fibra num copo com água destilada e lavou-se no banho de ultrassons durante 10 minutos (Figura 12);



Figura 12: Lavagem da fibra no banho de ultrassons.

- 4- A fibra foi incubada durante 2 horas na solução de 10% do iniciador (AAPH) em solução tampão de ácido bórico (100 mM) a pH 11,5;
- 5- Por fim lavou-se a fibra no banho de ultrassons durante 10 minutos e depois secou-se ao ar de um dia para outro.

4.6. Síntese do polímero não impresso

O polímero não impresso foi sintetizado pelo processo de polimerização radicalar por enxertia na superfície da fibra ótica sob as condições descritas na Tabela 1.

O ácido metacrílico (MAA) foi utilizado como monómero funcional, o dimetacrilato de etilenoglicol como agente de reticulação e como solvente de polimerização foi utilizado a mistura etanol/água na proporção (20/80) % e água destilada. O monómero e o agente de reticulação foram misturados no solvente e a mistura foi colocada durante 10 minutos no banho de ultrassons.

Colocou-se a fibra e a mistura de polimerização no reator (Figura 13). A fibra foi inserida através dos septos das tampas nos dois lados do reator. Com isto o objetivo era manter a fibra esticada e suspensa de modo a assegurar a uniformidade do polímero em todo o comprimento da fibra.

Seguidamente, purgou-se a mistura com azoto durante 15 minutos para a remoção de ar, evitando a inibição do processo de polimerização. A polimerização foi feita durante 20 minutos (fibra monomodo) ou 30 minutos (fibra multimodo), com o reator mergulhado num banho de água termostatizado a 57 °C. Após o processo de polimerização, a fibra foi removida do reator, lavada com água destilada e finalmente deixou-se a fibra secar ao ar.

Tabela 1: Concentrações dos reagentes usados no processo de síntese de polímero não impresso.

Solução	[MAA] /mM	[EDMA] /mM	Razão (EDMA/MAA)
A	6,3	22,5	3,6
B	4,3	15,4	3,6
C	4,3	7,7	1,8

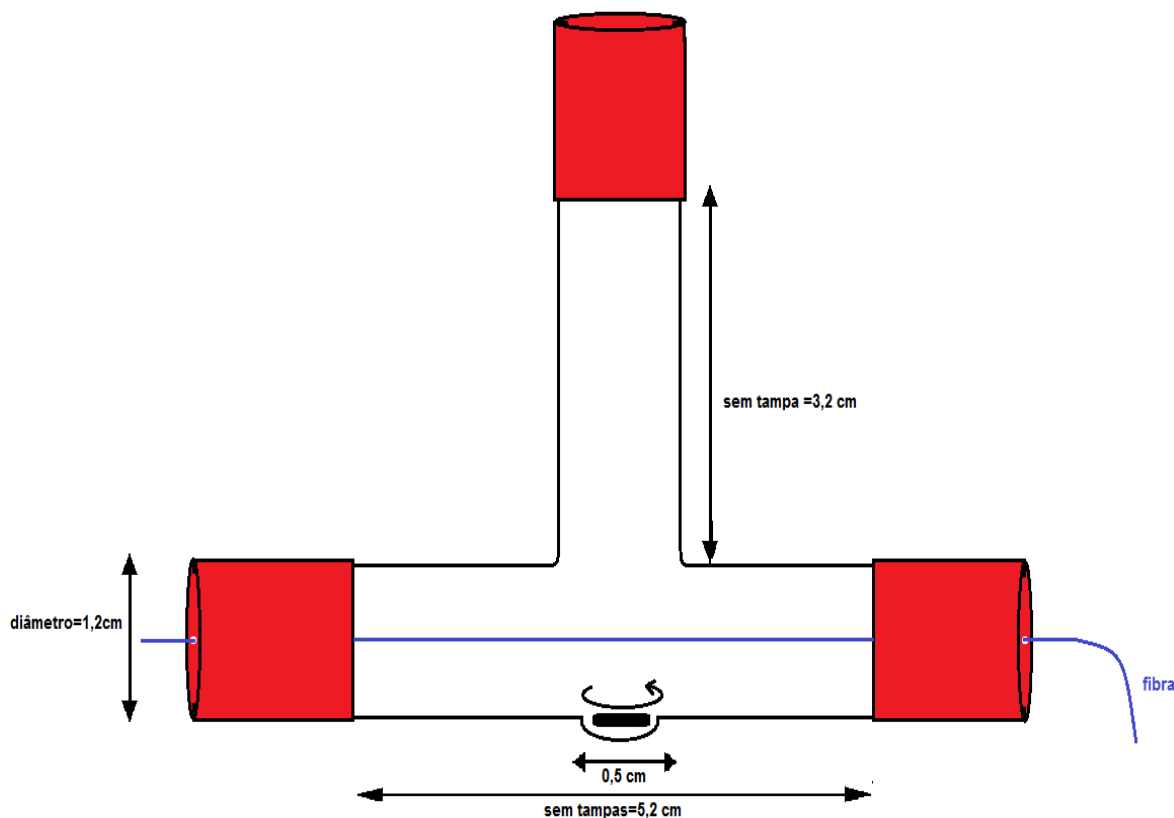


Figura 13: Esquema do reator usado na polimerização.

4.7. Síntese de polímero molecularmente impresso

A síntese do polímero molecularmente impresso foi feita usando os mesmos reagentes que na síntese do polímero não impresso, tendo-se para além destes adicionado o analito, ião amónio, como molécula molde. O procedimento usado foi baseado nos trabalhos de Sulitzky et al. [49] e Hattori et al. [50].

O tempo de polimerização foi igual ao do processo de síntese de polímero não impresso (20 minutos para fibra monomodo e 30 minutos para a fibra multimodo).

Após a impressão molecular, a molécula molde foi removida do polímero por lavagem com água destilada. Para isso, deixou-se a fibra num copo com água destilada de um dia para outro com agitação magnética.

A Tabela 2 apresenta as condições experimentais usadas na síntese do polímero impresso.

Tabela 2: Concentrações dos reagentes usados no processo de síntese de polímero molecularmente impresso.

Solução	[MAA] / mM	[EDMA] /mM	[NH₄⁺] /mM	Razão (EDMA/MAA)
B	4,3	15,4	0,614	3,6
C	4,3	7,7	0,614	1,8
D	2,1	7,7	0,30	3,6

4.8. Caracterização das fibras após polimerização: cálculo do diâmetro e da espessura do polímero

Antes e depois do processo de polimerização, as fibras foram analisadas com o microscópio ótico Olympus BX51. O diâmetro de cada fibra foi calculado, a partir das imagens obtidas pelo microscópio exportadas para o Microsoft word.

Para a fibra multimodo, as medições dos diâmetros foram feitas com fotografias obtidas da fibra sobre a grelha da escala do microscópio ótico Olympus BX51. Para cada fibra foram obtidas 3 fotografias e em cada uma das fotografias foram feitas 5 determinações do diâmetro, em locais diferentes, como se mostra na Figura 14. Para a fibra monomodo, não foi possível focar a fibra e a grelha da escala ao mesmo tempo tendo as fotografias das fibras sido obtidas sem a grelha da escala. A Figura 15 representa o exemplo típico das medições para a fibra de 320 μm .

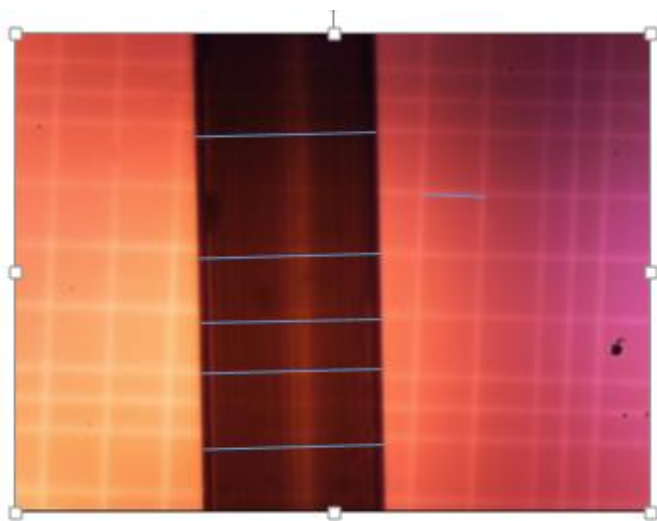


Figura 14: Imagem de uma fibra multimodo não polimerizada com visualização da escala. As linhas a azul correspondem à marcação de 5 posições para medição do diâmetro.

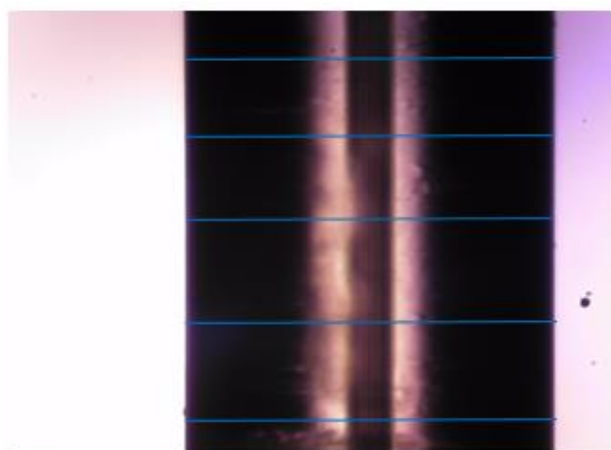


Figura 15: Imagem de uma fibra monomodo não polimerizada com visualização da escala. As linhas a azul correspondem à marcação de 5 posições para medição do diâmetro.

Cada diâmetro da fibra foi calculado a partir da medição da altura e do comprimento dos catetos do triângulo retângulo do qual a linha azul é a hipotenusa.

Para cada condição experimental foram polimerizadas 3 a 4 fibras, tendo o número de determinações do diâmetro para cada condição experimental, variado entre 45 e 60 medições. A espessura do polímero foi calculada pela diferença entre a fibra polimerizada e pela não modificada.

A Figura 16 mostra um esquema das determinações efetuadas para cada condição experimental, definida para uma determinada concentração do monômero e do agente de reticulação.

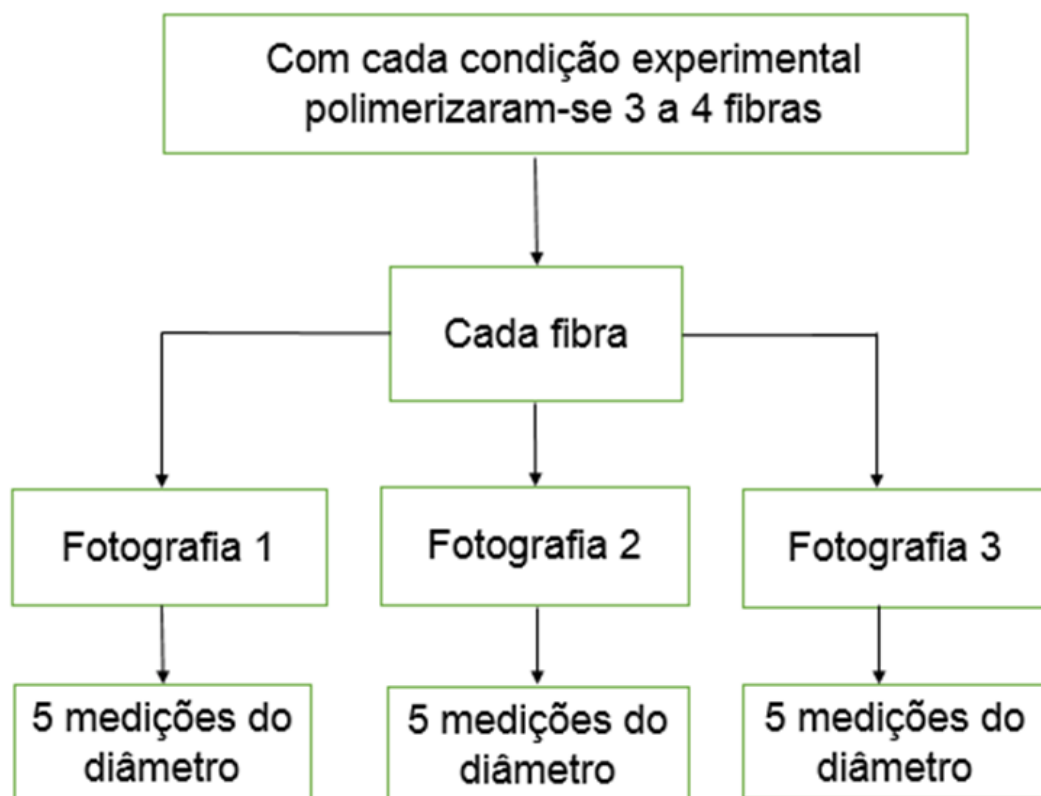


Figura 16: Processo efetuado para a medição do diâmetro da fibra para cada condição experimental.

4.9. Arranjo experimental para caracterização ótica do sensor

Neste trabalho a caracterização ótica do sensor foi feita utilizando técnicas de medição ótica por transmissão. O sistema de análise, conforme representado na Figura 17, é composto por uma fonte de radiação, um detetor, uma fibra ótica e o sistema de processamento de dados. A mesma montagem experimental serviu tanto para a monitorização do processo de imobilização do iniciador, como do processo de polimerização e detecção do ião amónio na água. A Figura 18 mostra-nos o posicionamento da fibra dentro do reator. Foram utilizadas comprimentos mais longos da fibra em processo de síntese de polímeros impressos do que na síntese de polímeros não impressos (20-50 cm para monitorização do iniciador, do processo de polimerização e teste com diferentes concentrações de amónio). Fez-se o alinhamento do sistema usando uma fonte de radiação de halogéneo HL2000 da *Ocean Optics* (400-1000 nm).

A fibra ótica (sensor), encontra-se ligada à fonte de radiação e ao espectrómetro USB2000+ da *Ocean Optics* através de conectores e sistema de alinhamento.

A luz foi injetada e transmitida através da fibra ótica e recolhida pelo espectrómetro. O espectrómetro encontra-se ligado a um computador para registo do espectro transmitido, utilizando o software *SpectraSuite*, da *Ocean Optics*.

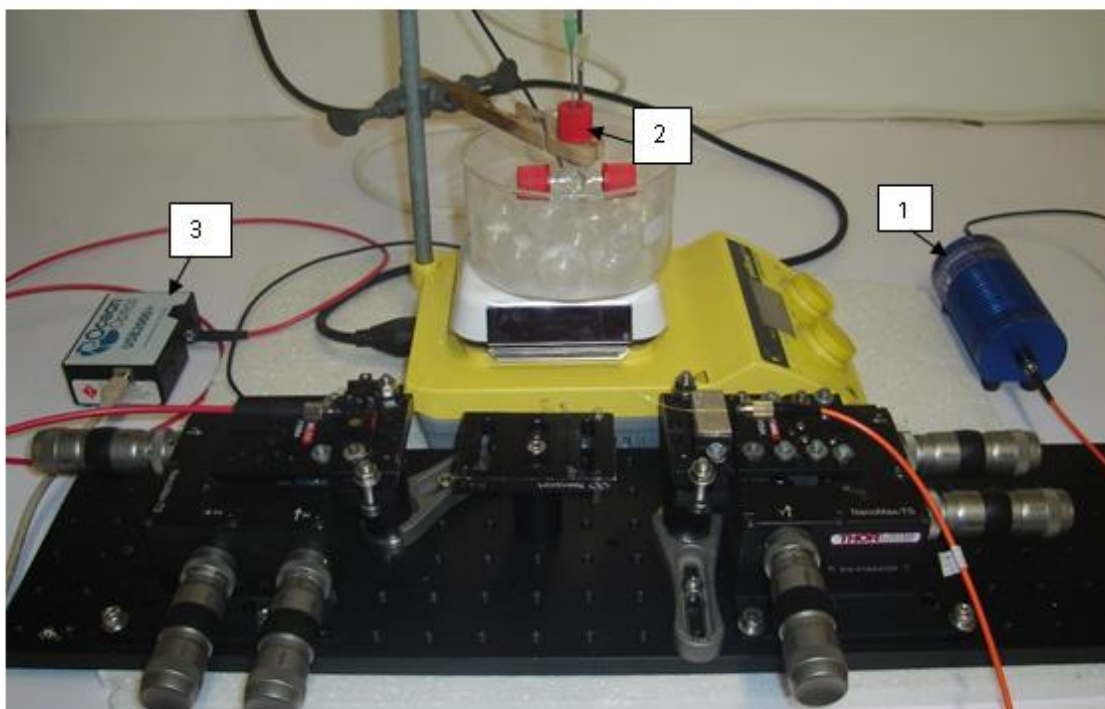


Figura 17: Montagem experimental para a caracterização do sensor de deteção do ião amónio na água, 1) fonte de radiação, 2) reator, 3) detetor.

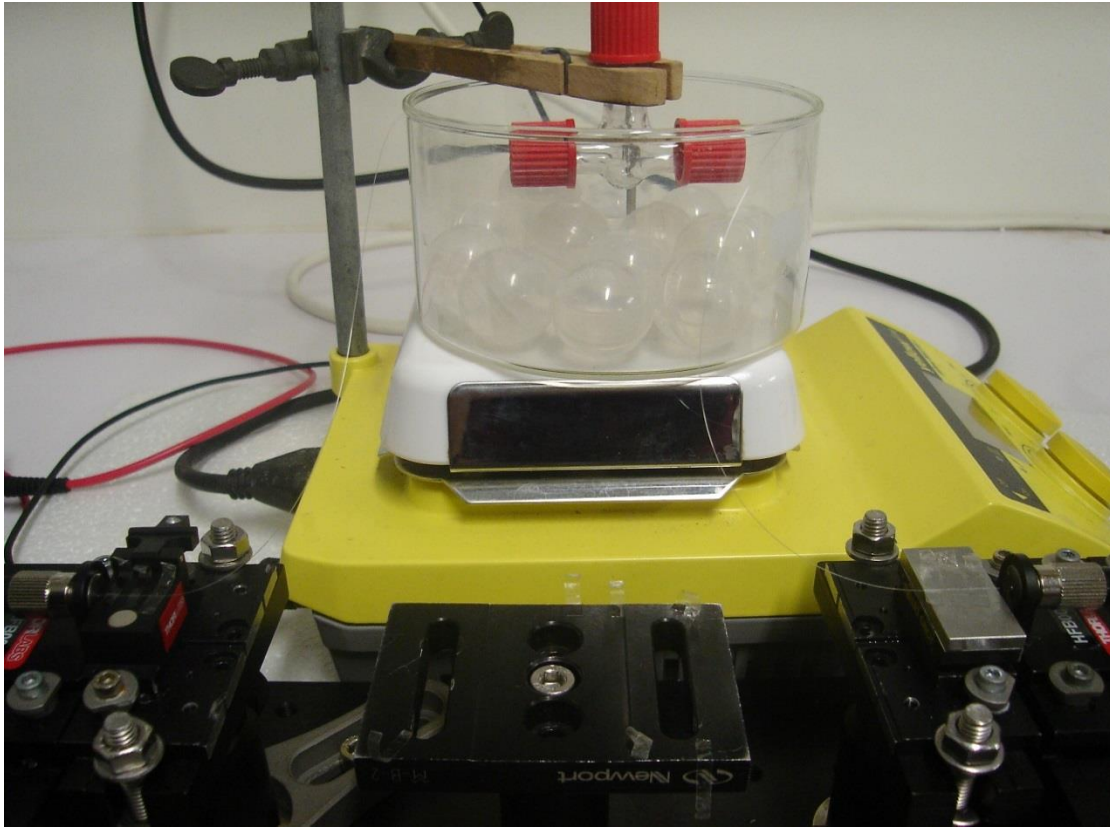


Figura 18: Esquema ilustrativo do posicionamento da fibra no reator.

4.10.Procedimento para o processo de monitorização do efeito da solução do iniciador e da solução de polimerização na transmissão do sinal ótico pela fibra ao longo do tempo

Para estudar o efeito da solução do iniciador ao longo do tempo na transmissão do sinal ótico da fibra, fez-se a monitorização do processo ao longo de 2 horas, tempo estipulado para a imobilização do iniciador na superfície da fibra ótica para que posteriormente ocorra o processo de polimerização. Foram feitas monitorizações tanto para a fibra multimodo como para a fibra monomodo. A monitorização foi feita na montagem experimental mostrada na Figura 17. A fibra foi colocada dentro do reator através dos septos das tampas do mesmo. Após colocar a fibra no reator gravou-se o espectro da fibra ao ar. Seguidamente adicionou-se a solução do iniciador no reator e a fibra ficou mergulhada na solução do iniciador. Gravaram-se espectros em pequenos intervalos de tempo ao longo das 2 horas de monitorização, para que posteriormente fosse possível avaliar a variação da

intensidade do sinal ótico ao longo do tempo. Após o processo de monitorização com a solução do iniciador, a fibra foi lavada no reator com água destilada, em agitação, durante 5 minutos. A lavagem foi repetida 5 vezes.

Foi também feito um teste com solução tampão de ácido bórico sem adição de iniciador para comparação.

O estudo do efeito do processo de polimerização na transmissão do sinal ótico pela fibra ótica foi realizado tanto para a fibra multimodo como para monomodo utilizando a montagem experimental mostrada na Figura 17.

A monitorização foi feita ao longo de 3 horas tendo sido utilizado para este ensaio a solução C (4,3 mM MAA; 7,7 mM EDMA e 0,614 mM NH_4^+). Primeiramente colocou-se a água na tina, e esperou-se que o sinal ótico ficasse estável.

Após o sinal estabilizar adicionou-se a solução de monómero (MAA) e o agente de reticulação (EDMA) numa mistura de etanol com água na proporção (20/80) % ao reator, e ligou-se o azoto para a remoção do ar da solução de polimerização. Após 15 minutos de remoção do ar, iniciou-se o aquecimento até a temperatura de decomposição do iniciador, ponto esse onde irá iniciar o processo de polimerização.

Os espectros foram gravados desde o início até ao fim da monitorização. Após o processo de monitorização a fibra foi lavada num copo com água destilada de um dia para outro com agitação magnética.

4.11. Testes preliminares do sensor na detecção do íão amónio

O teste da detecção do íão amónio com o sensor ótico em base de fibra multimodo foi feito com a camada de PMIs sintetizada utilizando a solução C (4,3 mM MAA; 7,7 mM EDMA e 0,614 mM NH_4^+) durante 15 minutos. A montagem experimental descrita acima (Figura 17) foi utilizada adicionando um agitador magnético para homogeneização de solução aquosa.

Foram testadas 3 concentrações diferentes de íão amónio (0,001 M, 0,01 M, 0,09M). Primeiramente adicionou-se 3 mL de água destilada no reator, e esperou-se que o sinal ótico ficasse estável, aproximadamente 60 minutos depois da adição da água. Após o sinal ótico estabilizar, gravou-se o espectro em água, sendo a referência correspondente à concentração de íão amónio de 0 M. Seguidamente adicionaram-se as soluções do íão amónio ao reator de forma a variar a concentração entre 0,001 a 0,09 M e registaram-se as variações da intensidade do sinal para cada concentração do íão amónio durante 20 a 40 minutos, após adição.

5. Resultados e Discussão

5.1. Otimização do processo de polimerização

5.2. Escolha dos reagentes

5.2.1. Escolha do solvente

O solvente a usar no processo de polimerização terá que ser capaz de dissolver o monómero e o agente de reticulação, sem dissolver a fibra ótica.

A água não dissolve a fibra, mas não é um bom solvente para o agente de reticulação, ficando a sua utilização limitada à situação de soluções muito diluídas. A partir dos dados da literatura sabe-se que a fibra do PMMA se dissolve nos seguintes solventes: acetato de etilo, clorofórmio, dicloroetano e 1,2 dicloroetano [51].

Para escolha do solvente fez-se o teste de solubilidade do PMMA em alguns outros solventes à temperatura ambiente, e durante algumas horas. A tabela 3 mostra a massa de um pedaço da fibra ótica, antes e depois de ter ficado mergulhada em cada um dos solventes testados, durante o tempo indicado.

Pelos resultados apresentados na Tabela 3, pode ver-se que tanto o acetonitrilo como o etanol puro dissolviam a fibra. Para a mistura etanol /água nas proporções (20/80) % e (50/50) % verificou-se que a fibra aumentou de peso depois de ter estado em contacto com o solvente. Isto mostra que a fibra de PMMA absorve o solvente. Dado o critério usado para este teste, que foi o de encontrar o solvente que não dissolvesse a fibra, a mistura etanol/água nas proporções (20/80) % e (50/50) %, mostrou ser adequada.

Tabela 3: Teste de solubilidade da fibra de PMMA em alguns solventes.

		PMMA	
Solventes	Tempo (h)	Massa inicial (mg)	Massa final (mg)
Acetonitrilo puro	5	0,438	Dissolve
Etanol puro	0,5	0,549	0,514
Etanol/água (20/80) %	5	0,542	0,542
	24		0,549
Etanol/água (50/50) %	5	0,519	0,548
	24		0,548

5.2.2. Escolha do iniciador

De entre os iniciadores mais referidos na literatura, contam-se o 4'4'-azobis- (4-ácido ciano valérico) e o dihidrocloreto de 2,2'-azobis (2-metilpropionamida). Ambos foram selecionados para este estudo porque são solúveis em água e apresentam grupos funcionais que facilitam a sua imobilização na superfície de PMMA. Testou-se a solubilidade da fibra de PMMA à temperatura de decomposição desses iniciadores, respetivamente 70 °C e 57 °C, nos solventes que mostraram não danificar a fibra à temperatura ambiente: água e misturas etanol: água. Na Tabela 4 estão sumariados os resultados desses testes.

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que para as misturas etanol/água, independentemente da proporção, a 70 °C a fibra sofreu alterações (dissolveu-se parcialmente e ficou danificada), enquanto para a temperatura de 57 °C, a fibra apenas se dissolveu na mistura etanol/água na proporção (50/50) %.

Concluiu-se que o melhor iniciador seria o dihidroclorato de 2,2'-azobis (2-metilpropionamida) que era compatível com o solvente etanol/água nas proporções (20/80) %, (10/90) % e (0/100) %, uma vez que a fibra não ficou danificada em nenhuma destas misturas a 57 °C.

Tabela 4: Teste de solubilidade do PMMA em água e misturas etanol/água à temperatura de decomposição de ambos os iniciadores.

Solventes	Proporções (%)	T (°C)	Observações
Etanol/água	50/50	70	Fibras dissolveram-se parcialmente e tornaram-se mais maleáveis
	20/80	70	Fibras danificadas
	10/90	70	Fibras danificadas
	0/100	70	Fibras ficaram mais maleáveis
	50/50	57	Fibras dissolveram-se parcialmente e tornaram-se mais elásticas
	20/80	57	Fibras não sofreram alterações visíveis
	10/90	57	Fibras não sofreram alterações visíveis
	0/100	57	Fibras não sofreram alterações visíveis

5.3. Esquema reacional da síntese do polímero molecularmente impresso

A modificação química da fibra ótica no sentido de a tornar capaz de interagir com o ião amônio foi conseguida por enxertia de um polímero molecularmente impresso. A Figura 19 mostra um esquema da síntese do polímero molecularmente impresso. Conforme se pode ver na Figura 19 começou por se fazer a imobilização do iniciador na superfície do suporte sólido (PMMA), a fim de posteriormente, se poderem gerar radicais livres que dariam início à reação de polimerização do monómero funcional e agente de reticulação na presença da molécula molde, o ião amônio.

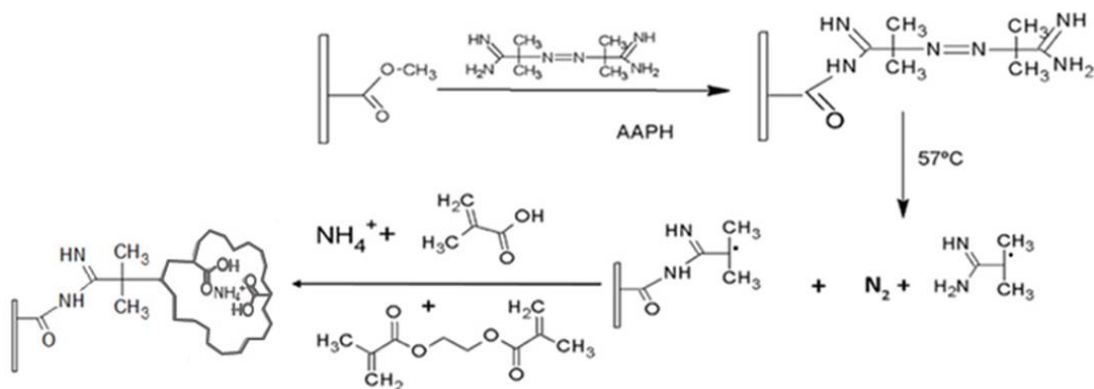


Figura 19: Enxertia do polímero impresso com ião amónio na superfície do PMMA, adaptado de [50].

5.4. Concentração do monómero e do reagente de reticulação na mistura de polimerização

5.4.1. Síntese do polímero não impresso

Para obter o melhor revestimento na superfície do PMMA, foi necessário testar diferentes condições de polimerização, variando as concentrações do agente de reticulação e do monómero. Inicialmente foi feita a polimerização sem a presença da molécula molde, e o solvente utilizado foi a mistura etanol/água na proporção (20/80) %. Foram avaliados a uniformidade e a espessura do polímero.

Na Tabela 5 mostram-se os resultados do processo de síntese do polímero não impresso, em termos da espessura do enxerto polimérico, quando temos como solvente de polimerização a mistura etanol/água na proporção (20/80) %, enquanto na Tabela 6 se mostram imagens da fibra revestida, vista ao microscópico ótico.

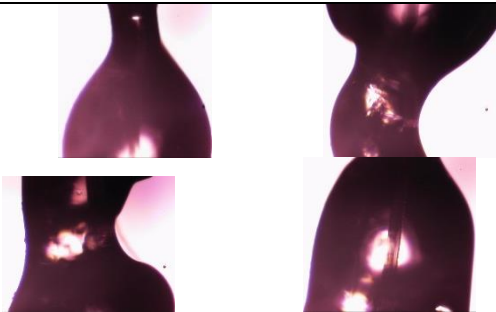

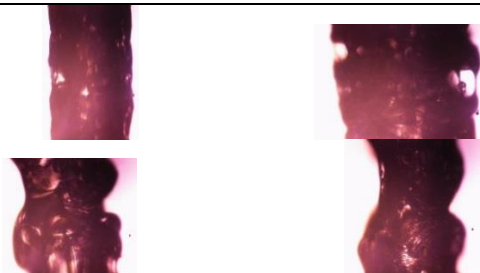
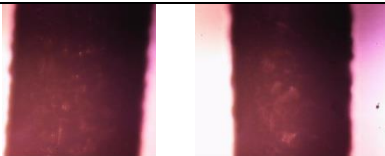
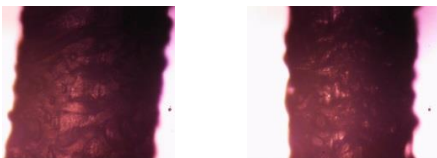
Com a solução A, a mais concentrada de todas, ($[MAA] = 6,3 \text{ mM}$ e $[EDMA] = 22,5 \text{ mM}$) a fibra multimodo dissolveu-se após 30 minutos de polimerização e a fibra monomodo estava danificada após 20 minutos de polimerização, apresentando um polímero bastante irregular e com buracos, conforme se pode constatar pelas imagens da Tabela 6. Para a solução B, em que diminui-se a concentração de ambos os reagentes, conseguiu-se obter uma camada de polímero na superfície da fibra passível de ser medida, embora o polímero

obtido seja muito irregular e igualmente com buracos. Com a solução C, na qual se manteve a concentração do monómero da solução B, e diminui-se a concentração do agente de reticulação para a metade, obtiveram-se melhores resultados, tendo-se obtido, para ambas as fibras, uma espessura de polímero mais uniforme do que com solução B, e sem danos aparentes.

Tabela 5: Diâmetro das fibras revestidas e espessura do polímero enxertado, obtido com cada uma das soluções de polimerização.

Solução	[MAA] /mM	[EDMA] /mM	Razão (EDMA/MAA)	Diâmetro da fibra monomodo /μm	Diâmetro da fibra multimodo /μm	Espessura polímero monomodo /μm	Espessura polímero multimodo /μm
Fibra não modificada	-----	-----	-----	304,6±0,3	141,8±0,2	-----	-----
A	6,3	22,5	3,6	Fibra com buracos e irregular	Fibra dissolveu-se	-----	-----
B	4,3	15,4	3,6	365±8	180±6	30±8	19±6
C	4,3	7,7	1,8	328±3	152,9±1,1	12±3	5,6± 1,1

Tabela 6: Imagens das fibras polimerizadas, obtidas por microscopia ótica.

Solução	Fibra	Imagens obtidas pelo Microscópio Olympus BX51
A	Fibra multimodo 30min	Dissolveu-se
	Fibra monomodo 20min	
B	Fibra multimodo 30min	
	Fibra monomodo 20min	
C	Fibra multimodo 30min	
	Fibra monomodo 20min	

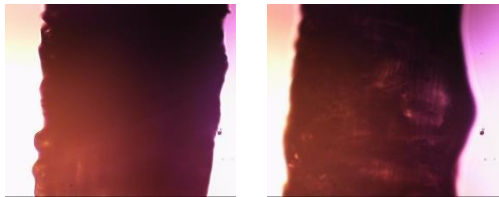
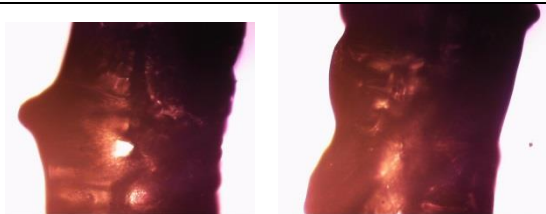
Devido à baixa concentração do agente de reticulação na solução C, e tendo em conta que o problema de fazer a polimerização utilizando a água destilada como solvente é a baixa solubilidade do EDMA em água, testou-se a polimerização com as concentrações do monómero e do agente de reticulação da solução C, alterando apenas o solvente de polimerização que neste caso passou a ser água destilada. Na Tabela 7 mostram-se a média do diâmetro das fibras polimerizadas e respetivos intervalos de confiança ($\alpha=0,05$), bem como, para comparação, a medida do diâmetro da fibra antes da polimerização, a partir do qual foi calculada a espessura do polímero e na Tabela 8 as imagens das fibras polimerizadas.

Obtiveram-se com esta solução em água espessuras do polímero ligeiramente mais irregulares do que com a solução C preparada com solvente etanol/água na proporção de (20/80) %.

Tabela 7: Diâmetro das fibras revestidas e espessura do polímero enxertado, obtido com a solução C (água).

Solução	[MAA] /mM	[EDMA] /mM	Razão (EDMA/MAA)	Diâmetro da fibra monomodo /μm	Diâmetro da fibra multimodo /μm	Espessura polímero monomodo /μm	Espessura polímero multimodo /μm
Fibra não modificada	-----	-----	-----	304,6±0,3	141,8±0,2	-----	-----
C (água destilada)	4,3	7,7	1,8	335±5	159±2	15±5	9± 2

Tabela 8: Imagens das fibras polimerizadas com a solução C preparada em água, obtidas por microscopia ótica.

Solução	Fibra	Imagens obtidas pelo Microscópio Olympus BX51
C(0% etanol)	Fibra multimodo 30min	
	Fibra monomodo 20min	

5.4.2. Síntese do polímero molecularmente impresso

Para além dos reagentes usados anteriormente, foi adicionada a molécula molde, o ião amónio, à mistura reagente. Em resultado dos testes anteriores, respeitantes à síntese do polímero não impresso, descartou-se a possibilidade de usar a condição em que temos uma solução mais concentrada (solução A) na síntese do polímero molecularmente impresso, dado que esta degradava ambas as fibras. As restantes condições de polimerização começaram por ser as mesmas usadas na síntese do polímero não impresso, tendo-se apenas, como já foi referido, adicionado a molécula molde. Devido aos bons resultados obtidos com a mistura C levaram a acrescentar uma nova mistura (D), com metade da concentração do monómero. Na avaliação dos resultados foram usados os mesmos critérios: uniformidade e espessura do polímero. Na Tabela 9 mostram-se os resultados do processo de síntese do polímero impresso, em termos da espessura do enxerto polimérico, enquanto na Tabela 10 se mostram imagens da fibra revestida, vista ao microscópico ótico.



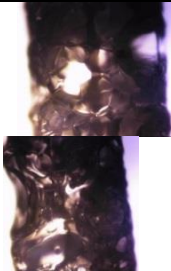
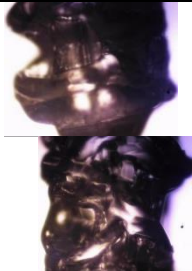


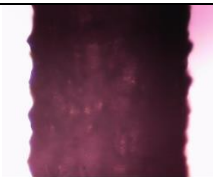


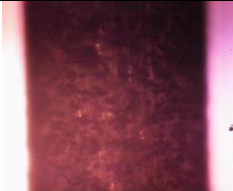
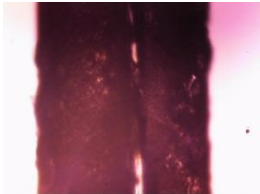
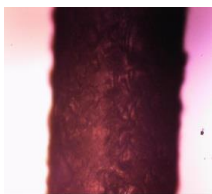
A solução com a qual se obtiveram maiores espessuras de polímeros, tanto para a fibra monomodo como para a multimodo, foi a B. Mantendo a concentração do monómero e diminuindo a concentração do agente de reticulação, foi preparada a solução C, com a qual se verificou que as espessuras do polímero diminuíram para as duas fibras. Com a solução D em que a concentração do agente de reticulação foi mantida em relação a C e se diminuiu a concentração do monómero, obtiveram-se polímeros com espessuras que não são significativamente diferentes. Fazendo o teste F para comparação das variâncias das fibras polimerizadas com as soluções C e D, pode-se concluir, com um grau de confiança de 95%, que a polimerização com a solução D conduziu a resultados mais uniformes do que com a solução C, tanto para a fibra multimodo, como para a fibra monomodo.

De entre as condições testadas, as soluções C e D mostraram ser as mais eficazes para o processo de síntese de polímero molecularmente impresso, uma vez que com estas duas misturas obtivemos revestimentos poliméricos uniformes e com espessuras que só testes posteriores à sua sensibilidade ao ião amónio permitirão concluir sobre a sua adequabilidade para funcionarem como camada sensível do sensor.

Tabela 9: Diâmetro das fibras revestidas e espessura do polímero molecularmente impresso, obtido com cada uma das soluções de polimerização.

Solução	[MAA] /mM	[EDMA] /mM	[NH ₄ ⁺] /mM	Razão EDMA /MAA	Diâmetro da fibra monomodo /μm	Diâmetro da fibra multimodo /μm	Espessura polímero monomodo /μm	Espessura polímero multimodo /μm
Fibra não modificada	-----	-----	-----	-----	304,6±0,3	141,8±0,2	-----	-----
B	4,3	15,4	0,614	3,6	365±12	161±4	30±12	10±4
C	4,3	7,7	0,614	1,8	325±3	154,5±0,7	10±3	6,3±0,7
D	2,1	7,7	0,30	3,6	316±2	153,6±0,4	6±2	5,9±0,4

Tabela 10: Imagens das fibras polimerizadas obtidas por microscopia ótica.

Solução	Fibra	Imagens obtidas pelo Microscópio Olympus BX51	
B	Fibra multimodo 30min		
	Fibra monomodo 20min		
C	Fibra multimodo 30min		
	Fibra monomodo 20min		
D	Fibra multimodo 30min		
	Fibra monomodo 20min		

5.5 Comportamento ótico da fibra com as modificações provocadas pelo processo de polimerização

5.5.1. Efeito do iniciador sobre a transmissão da radiação pela fibra ótica

A monitorização do efeito do iniciador sobre a transmissão da radiação pela fibra foi feita ao longo das 2 horas que se convencionou inicialmente usar para fazer a imobilização do iniciador na superfície da fibra de PMMA.

Na Figura 20 mostra-se o espectro da radiação que chega ao detetor com a fibra mergulhada na solução do iniciador.

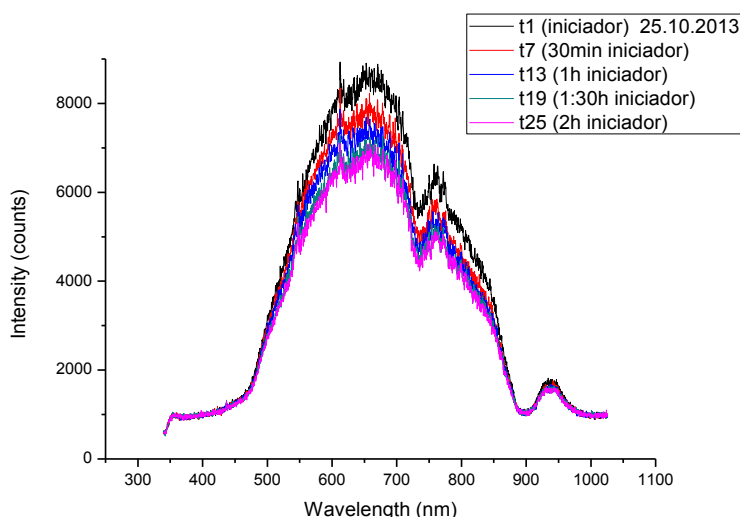


Figura 20: Espectros da intensidade da radiação transmitida por uma fibra multimodo em função do comprimento de onda, obtidos ao longo do tempo que a fibra se encontrava mergulhada na solução do iniciador.

Conforme o espectro apresentado na Figura 20 a intensidade da radiação transmitida através da fibra diminuiu ao longo do tempo de monitorização.

Tais resultados podem dever-se à alteração do material polimérico causada pela absorção do iniciador no interior da bainha da fibra, e consequentemente à mudança do índice de refração da bainha.

A monitorização do efeito de transmissão da radiação pela fibra também foi feita apenas com a fibra mergulhada na solução tampão, igualmente durante 2 horas. O gráfico da Figura 21 mostra a comparação do efeito da solução tampão e da solução do iniciador na transmissão da radiação pela fibra. O gráfico da Figura 21 foi obtido normalizando a área do espectro, tendo como referência o sinal aquando da adição da solução do iniciador e da solução tampão, respetivamente, ao reator. Durante a monitorização com iniciador a intensidade do sinal diminuiu, tendo estabilizado aproximadamente após 90 minutos. Para a solução tampão, o efeito observado foi inverso ao do iniciador, tendo a intensidade do sinal aumentado ao longo da monitorização.

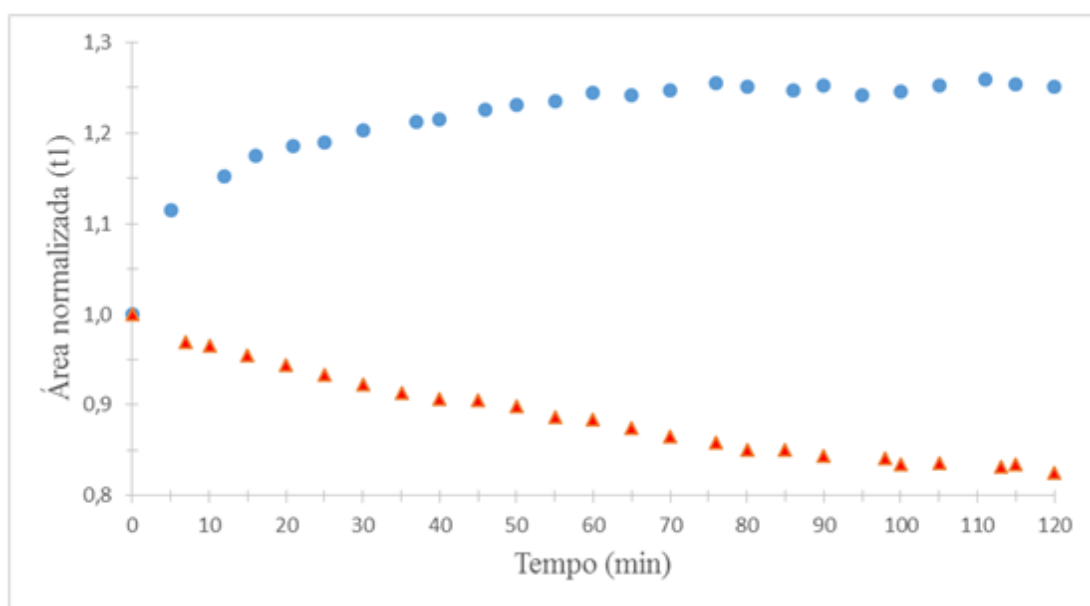


Figura 21: Integral da área normalizada a tI (adição da solução) em função do tempo – monitorização com solução de iniciador (Δ) e solução tampão (o).

Este comportamento leva a concluir que o decréscimo do sinal não é produzido pelo solvente mas sim efetivamente pelo iniciador.

5.5.2. Efeito da polimerização na transmissão da radiação pela fibra ótica

O estudo do efeito do tempo de polimerização na transmissão da radiação pela fibra ótica foi feito ao longo de 3 horas, e registaram-se espectros em pequenos intervalos de tempo (aproximadamente de 5 em 5 minutos). Partiu-se de uma fibra já com iniciador. A solução utilizada para a monitorização foi a solução C (4,3 mM MAA; 7,7 mM EDMA). Este mesmo estudo foi repetido numa solução sem monómero nem agente de reticulação, apenas com solvente (mistura de etanol/água na proporção (20/80) %), Uma vez que para a decomposição do iniciador era necessário atingir a temperatura de 56,5°C, o aquecimento foi ligado durante as experiências.

Na Figura 22 mostra-se a área dos espectros normalizada, tendo como referência o tempo de adição da solução de polimerização e solvente no reator correspondente, a t1.

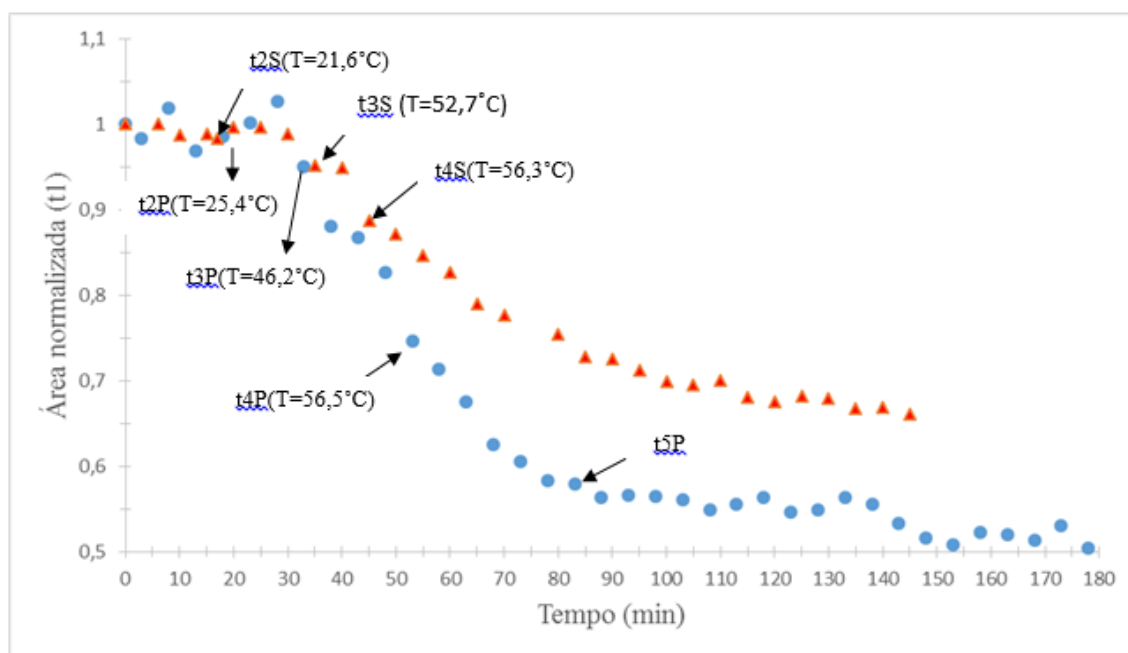


Figura 22: Integral da área normalizada a t1 (adição da solução) em função do tempo – monitorização com solvente (Δ) e solução de polimerização (o), S (solução de solvente), P (Solução de polimerização), t2 (tempo a partir do qual inicia o aquecimento), t3 (tempo quando o sinal começa a diminuir), t4 (início da polimerização), t5 (após 30 minutos de polimerização).

Comparou-se o efeito do tempo de polimerização e o efeito de solvente ao longo do tempo na transmissão da radiação pela fibra ótica. No gráfico 22, está marcado o ponto t2 ao qual se inicia o aquecimento das soluções e o ponto t4 ao qual se atingiu a temperatura de

decomposição do iniciador e se considerou como o início do processo de polimerização ($\approx 56,5^{\circ}\text{C}$). Após t_4 , a temperatura foi mantida constante até ao fim das experiências.

Começa a notar-se o decréscimo da intensidade do sinal que chega ao detetor no ponto t_3 , a que corresponde a temperatura de $46,2^{\circ}\text{C}$ para a monitorização do processo de polimerização, e a $52,7^{\circ}\text{C}$ na monitorização com o solvente. A partir de t_3 o decréscimo do sinal é muito mais acentuado para o processo de polimerização, do que no caso em que fibra apenas está em contacto com o solvente.

O sinal da fibra onde se processa a polimerização estabilizou-se no ponto t_5 , após 30 minutos do início da polimerização (t_4), o que vem confirmar o tempo escolhido para as polimerizações efetuadas na fibra multimodo aquando da escolha da composição da solução de polimerização.

Na Figura 23, mostram-se os resultados de um estudo de polimerização semelhante conduzido na fibra monomodo.

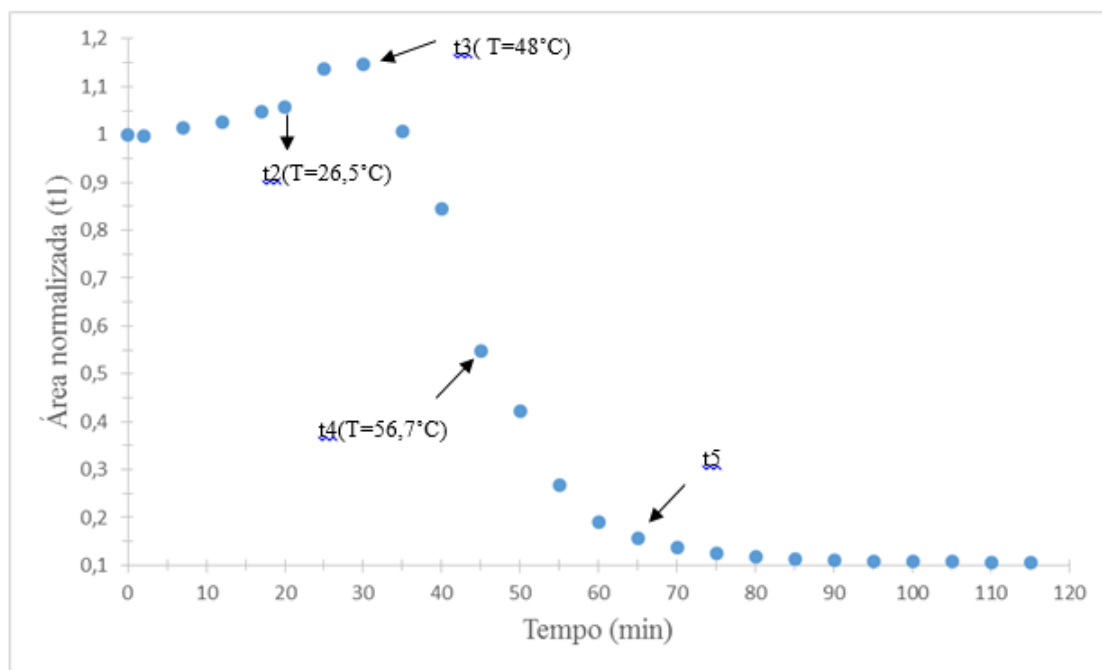


Figura 23: Integral da área normalizada a t_1 (adição da solução) em função do tempo – monitorização com solução de polimerização (o), t_2 (tempo a partir do qual inicia o aquecimento), t_3 (tempo quando o sinal começa a diminuir) t_4 (início do processo de polimerização), t_5 (após 20 minutos de polimerização).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 23, pode-se concluir que a intensidade do sinal que chega ao detetor começou a diminuir partir do ponto t3 a 48 °C. O processo de polimerização começou no ponto t4 a 56,7 °C, tendo o sinal estabilizado no ponto t5, após 20 minutos de polimerização. Este estudo vem explicar a razão de todas as polimerizações com a fibra monomodo terem sido realizadas durante 20 minutos, após atingir a temperatura de decomposição do iniciador.

5.5.3. Teste do sensor na detecção do ião amónio

O teste do sensor quanto à sensibilidade ao ião amónio, foi feito para 3 concentrações diferentes do ião amónio (0,001 M, 0,01 M, 0,09 M) e tanto para a fibra multimodo com a camada de PMIs obtida com a solução C e tempo de polimerização de 15 minutos, como para uma fibra não modificada.

A Figura 24, mostra a resposta das duas fibras óticas, modificada com o PMI e fibra virgem, nas soluções de amónio. Os sinais obtidos são representados como a área total do espectro normalizada pela área total registrada após estabilização em água.

Para a fibra não modificada não se verificou qualquer variação significativa na intensidade do sinal na gama de concentrações do ião amónio entre 0 e 0,09 M. Para a fibra com a camada de PMI a intensidade do sinal diminui com a concentração do ião amónio, sendo esta diminuição mais acentuada entre as concentrações do amónio entre 0 e 0,01 M. Verificou-se saturação de sinal para concentrações de amónio entre 0,01 e 0,09 M.

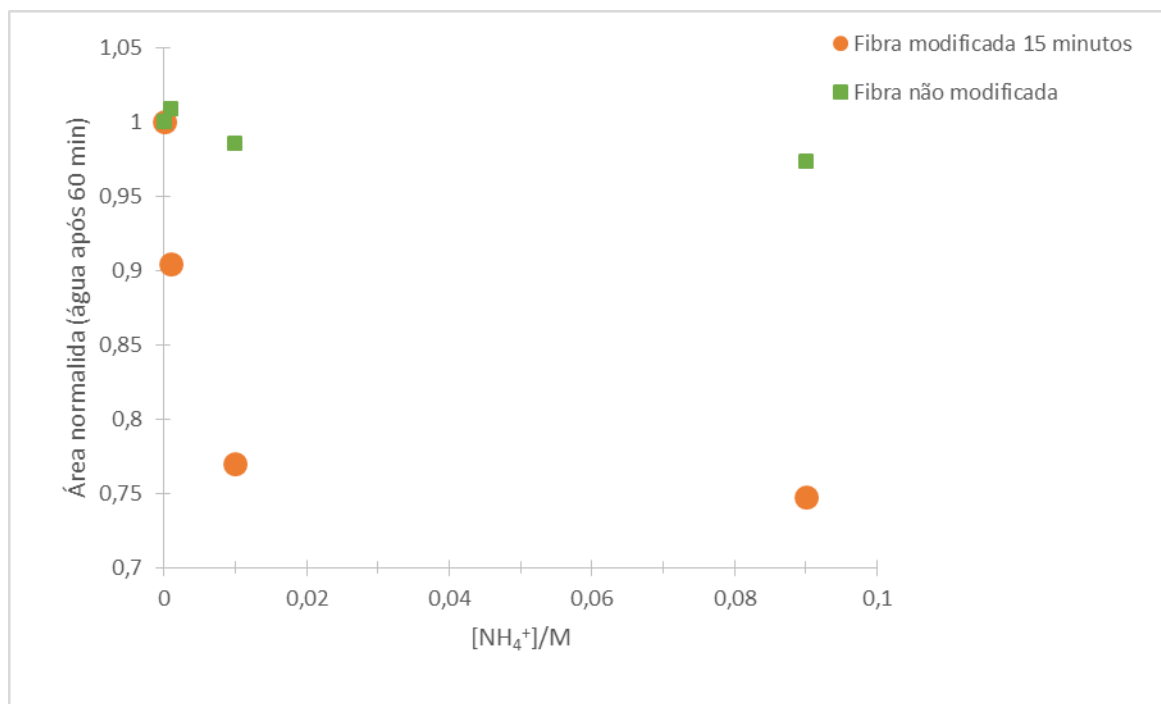


Figura 24: Integral da área do espectro normalizada pela área do espectro correspondente ao tempo de estabilização da água no reator em função da concentração do ião amónio.

6. Conclusões

A monitorização do ião amónio na água é importante, pois o ião amónio é tóxico para o organismo, principalmente para os peixes, a partir de concentrações muito baixas, de apenas 0,2 mg/L. Além disso, pode apresentar efeitos graves para a saúde humana, causando alterações no metabolismo. Por estas razões, os métodos para a monitorização do ião amónio têm registado constantes crescimento e aperfeiçoamento ao longo do tempo, fazendo-se ainda assim sentir a falta de um método rápido fiável e barato.

Com este trabalho pretendeu-se desenvolver um sensor em fibra ótica para a análise do ião amónio. Sensores químicos em fibra ótica apresentam algumas vantagens como a imunidade à interferência eletromagnética, serão passíveis de ser produzidos em massa a baixo custo, serão previsivelmente robustos e possuirão a capacidade de transmitir a radiação ao longo de grandes distâncias sem perdas significativas, o que permitirá a deteção remota, chegando a lugares de difícil acesso para a monitorização.

O sensor desenvolvido teve por base uma fibra ótica de poli(metacrilato de metilo), que foi funcionalizada com um polímero molecularmente impresso, especialmente concebido para interagir com o analito, o ião amónio. O polímero molecularmente impresso foi sintetizado por polimerização radicalar livre por enxertia.

Para a síntese do polímero não impresso conseguiu-se obter uma camada uniforme de polímero com a solução C (4,3 mM MAA; 7,7 mM EDMA), sendo que a espessura do polímero obtido para a fibra multimodo foi de $(5,6 \pm 1,1)$ μm e para a fibra monomodo foi de (12 ± 3) μm .

Relativamente ao polímero impresso, obtiveram-se camadas enxertadas mais uniformes com as soluções C (4,3 mM MAA; 7,7 mM EDMA e 0,614 mM NH_4^+) e D (2,1 mM MAA; 7,7 mM EDMA e 0,30 mM NH_4^+). Com ambas as soluções os resultados foram semelhantes em termos espessura, tendo-se obtido a espessuras do polímero de $(6,3 \pm 0,7)$ μm para a fibra multimodo e de (10 ± 3) μm para a fibra monomodo com a solução C. Com a solução D as espessuras dos polímeros obtidos foram de $(5,9 \pm 0,4)$ μm para a fibra multimodo e (6 ± 2) μm para a fibra monomodo.

Testou-se o sensor obtido com a solução C para a polimerização feita durante 15 minutos quanto à sua capacidade para detetar o ião amónio em água para 3 concentrações diferentes do ião amónio (0,001, 0,01, 0,09 M) e a fibra não modificada para as mesmas concentrações, tendo sido feitas medições de transmissão ótica.

Para o sensor de fibra não modificada não se verificou a alteração da intensidade do sinal para a variação de concentração do ião amónio em água entre 0 e 0,09 M. Para o sensor com a camada de PMIs (solução C, tempo de síntese 15 minutos), verificou-se uma variação da intensidade do sinal de 25 % para variações de concentrações de 0 e 0,01 M e saturação de sinal entre 0,01 e 0,09 M.

Conclui-se deste modo que este trabalho é um trabalho promissor uma vez que é possível que o sensor apresente sensibilidade na deteção do ião amónio.

Como não foi possível ver a repetibilidade do sensor devido ao pouco tempo, só um teste posterior à repetibilidade do sensor nos poderá confirmar a sensibilidade e a seletividade do sensor na deteção do ião amónio na água.

Bibliografia

- [1] E. Marañón, M. Ulmanu, Y. Fernández, I. Anger, and L. Castrillón, "Removal of ammonium from aqueous solutions with volcanic tuff," *J.Hazard .Mater*, **2006**, 37, 1402–1409,.
- [2] A. C. Marco Pisco, Marcos Consales, Stefania Campopiano, Antonello Cutolo, Roman Viter, Valentin Smyntyna, Michele Giordano, "Ammonia detection in water with a tin dioxide based optical sensor", *Proc. SPIE*, **2005**, .
- [3] D. Karadag, Y. Koc, M. Turan, and B. Armagan, "Removal of ammonium ion from aqueous solution using natural Turkish clinoptilolite," *J.Hazard .Mater*, **2006**, 36, 604–609,.
- [4] R. H. H.kurama, J.Poetzschke, "The application of membrane filtration for the removal of ammonium ions from potable Water," *Water Res.*, **2002**, 36, 2905-2909.
- [5] M. Molins-Legua, S. Meseguer-Lloret, Y. Moliner-Martinez, and P. Campíns-Falcó, "A guide for selecting the most appropriate method for ammonium determination in water analysis," *Trends Anal. Chem.*, **2006**,25, 282-290.
- [6] C.-T. Kuo, P.-Y. Wang, and C.-H. Wu, "Fluorometric determination of ammonium ion by ion chromatography using postcolumn derivatization with ophthaldialdehyde," *J. Chromatogr. A*, **2005**,1085, 91–97.
- [7] D. Thomas, M. Rey, and P. Jackson, "Determination of inorganic cations and ammonium in environmental waters by ion chromatography with a high-capacity cation-exchange column," *J. Chromatogr. A*, **2002**, 956, 181–186.
- [8] A. Lobnik, M. Turel, S. Urek, "Optical Chemical Sensors: Design and Applications in: Advances In Chemical Sensors " **2012**, 3-28.
- [9] M. C. Yappert, "A Tutorial on Fiber-Optic Chemical Sensors," *The Chemical Educator*, **1996**, 1, 1–10.
- [10] A. J. Guthrie, R. Narayanaswamy, and D. A. Russell, "Optical fibres in chemical sensing - a review," *Trans. Inst. Meas. Control*, **1987**,9, 71–80.
- [11] M.-M. Titirici and B. Sellergren, "Thin Molecularly Imprinted Polymer Films via Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization," *Chem. Mater.*, **2006**,18, 1773–1779.
- [12] C. He, Y. Long, J. Pan, K. Li, and F. Liu, "Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of analytes from real samples.," *J. Biochem. Biophys. Methods*, **2007**,70, 133–150.

- [13] H. H. Qazi, A. B. Bin Mohammad, and M. Akram, "Recent progress in optical chemical sensors.," *Sensors (Basel)*, **2012**, *12*, 16522–56.
- [14] C. McDonagh, C. S. Burke, and B. D. MacCraith, "Optical Chemical Sensors.," *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 400–22.
- [15] A. Dybko, "Fundamentals of Optoelectronics, in: Optical Chemical Sensors", **2006**, 47–58.
- [16] Y. Mendelson, "Optical Sensors, in: The Biomedical Engineering Handbook: Second Edition" **2000**.
- [17] L. Bilro, N. Alberto, J. L. Pinto, and R. Nogueira, "Optical Sensors based on plastic fibers.," *Sensors (Basel)*, **2012**, *12*, 12184–207.
- [18] J. Zubia and J. Arrue, "Plastic Optical Fibers: An Introduction to Their Technological Processes and Applications," *Opt. Fiber Technol.* , **2001**, *7*, 101–140.
- [19] P. Polishuk, "Plastic Optical Fibers Branch Out," *IEE Communications Magazine*, **2006**, 140–148.
- [20] I. Kasik, V. Matejec, M. Chomat, M. Hayer, and D. Berkova, "Optical Fibres For Optical Sensing," **2006**, 59–76.
- [21] M. Trinkel, W. Trettnak, F. Reininger, R. Benes, P. O'Leary, and O. S. Wolfbeis, "Study of the performance of an optochemical sensor for ammonia," *Anal. Chim. Acta*, **1996**, *320*, 235–243.
- [22] A. Lobnik and O. S. Wolfbeis, "Sol-gel based optical sensor for dissolved ammonia," *Sensors and Actuators*, **1998**, *51*, 203–207.
- [23] K. Waich, T. Mayr, and I. Klimant, "Microsensors for detection of ammonia at ppb-concentration levels," *Meas. Sci. Technol.*, **2007**, *18*, 3195–3201.
- [24] N. Strömberg and S. Hulth, "Ammonium selective fluorosensor based on the principles of coextraction," *Anal. Chim. Acta*, **2001**, *443*, 215–225.
- [25] A. H. Jalal, J. Yu, and G. A. Nnanna, "Fabrication and calibration of oxazine-based optic fiber sensor for detection of ammonia in water.," *Appl. Opt.*, **2012**, *51*, 3768–3775.
- [26] G. Absalan, M. Soleimani, M. Asadi, and M. B. Ahmadi, "Constructing a New Optical Sensor for Monitoring Ammonia in Water Samples Using Bis(acetylacetoneethylendiamine)-tributylphosphin Cobalt (III) Tetraphenylborate Complex -Coated Triacetylcellulose," *Anal. Sci.*, **2004**, *20*, 1433-1436.

- [27] B. Peçanha, L. Dias, E. Spinelli, and E. F. Muri, “Polímeros de Impressão Molecular Obtidos Através de Polimerização por Precipitação e sua Aplicação na Técnica de Extração em Fase Sólida,” *Polímeros Ciência e Tecnol.*, **2013**.
- [28] G. Vasapollo, R. Del Sole, L. Mergola, M. R. Lazzoi, A. Scardino, S. Scorrano, and G. Mele, “Molecularly imprinted polymers: present and future prospective.,” *Int. J. Mol. Sci.*, **2011**, *12*, 5908–5945.
- [29] C. Gkementzoglou, O. Kotrotsiou, and C. Kiparissides, “Synthesis of Novel Composite Membranes Based on Molecularly Imprinted Polymers for Removal of Triazine Herbicides from Water,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2013**, *52*, 14001–14010,.
- [30] V. B. Kandimalla and H. Ju, “Molecular imprinting: a dynamic technique for diverse applications in analytical chemistry.,” *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, *380*, 587–605.
- [31] K. Haupt, “Molecularly imprinted polymers in analytical chemistry,” *Analyst*, **2001**, *126*, 747–756.
- [32] O. Ramstrom and M. Yan, “Molecularly Imprinting -An Introduction,” in: *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*, **2004**, 1–13.
- [33] S. A. Piletsky, E. V. Piletska, K. Karim, K. W. Freebairn, C. H. Legge, and A. P. F. Turner, “Polymer Cookery: Influence of Polymerization Conditions on the Performance of Molecularly Imprinted Polymers,” *Macromolecules*, **2002**, *35*, 7499–7504.
- [34] G. Guan, B. Liu, Z. Wang, and Z. Zhang, “Imprinting of Molecular Recognition Sites on Nanostructures and Its Applications in Chemosensors,” *Sensors*, **2008**, *8*, 8291–8320.
- [35] V. Suryanarayanan, C.-T. Wu, and K.-C. Ho, “Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors,” *Electroanalysis*, **2010**, *22*, 1795–1811.
- [36] O. Y. F. Henry, D. C. Cullen, and S. a Piletsky, “Optical interrogation of molecularly imprinted polymers and development of MIP sensors: a review.,” *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, *382*, 947–956.
- [37] L. E. I. Ye and K. Mosbach, “The Technique of Molecular Imprinting – Principle , State of the Art , and Future Aspects,” *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*, **2001**, *41*, 107–113.
- [38] H. Y. and K. H. R. Row, “Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer,” *Int. J. Mol. Sci.*, **2006**, *7*, 155-178.
- [39] L. Chen, S. Xu, and J. Li, “Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications.,” *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 2922–2942.

- [40] P. A. G. Cormack and A. Z. Elorza, "Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation.," *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **2004**, 804, 173–182.
- [41] A. Martin-Esteban, "Molecularly imprinted polymers: new molecular recognition materials for selective solid-phase extraction of organic compounds.," *Fresenius. J. Anal. Chem.*, **2001**, 370, 795–802.
- [42] M. J. Whitcombe, I. Chianella, L. Larcombe, S. a Piletsky, J. Noble, R. Porter, and A. Horgan, "The rational development of molecularly imprinted polymer-based sensors for protein detection.," *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 1547–1571.
- [43] I. Mijangos, F. Navarro-Villoslada, A. Guerreiro, E. Piletska, I. Chianella, K. Karim, A. Turner, and S. Piletsky, "Influence of initiator and different polymerisation conditions on performance of molecularly imprinted polymers.," *Biosens. Bioelectron.*, **2006**, 22, 381–387.
- [44] C. Dauwe and T. Schneider, "Pressure-Induced Binding Sites in Molecularly Imprinted Network Polymers," *Macromolecules*, **1997**, 9297, 2454–2459.
- [45] E. V. Piletska, A. R. Guerreiro, M. J. Whitcombe, and S.A. Piletsky, "Influence of the Polymerization Conditions on the Performance of Molecularly Imprinted Polymers," *Macromolecules*, **2009**, 42, 4921–4928.
- [46] L. D. Marestoni, M. D. P. Sotomayor, Taboada, M. G. Segatelli, L. R. Sartori, and T. R. Teixeira, "Polímeros Impressos com Íons: Fundamentos, Estratégias de Preparo e Aplicações em Química Analítica ," *Quim.Nova.*, **2013**, 36, 1194–1207.
- [47] J. Haginaka, "Molecularly Imprinted Polymers for solid -phase extraction", **2004**
- [48] A. Bhattacharya and B.N. Misra, "Grafting: a versatile means to modify polymers Techniques, factors and applications," *Prog. Polym. Sci.*, **2004**, 29, 767–814.
- [49] C. Sulitzky, B. Rückert, A. J. Hall, F. Lanza, K. Unger, and B. Sellergren, "Grafting of Molecularly Imprinted Polymer Films on Silica Supports Containing Surface-Bound Free Radical Initiators," *Macromolecules*, **2002**, 35, 79–91.
- [50] K. Hattori, M. Hiwatari, C. Iiyama, Y. Yoshimi, F. Kohori, K. Sakai, and S. a. Piletsky, "Gate effect of theophylline-imprinted polymers grafted to the cellulose by living radical polymerization," *J. Memb. Sci.*, **2004**, 233, 169–173.
- [51] N. N. António, "Estudo dos mecanismos de despolimerização térmica do poli(metacrilato de metilo)," Tese de Mestrado, Universidade Técnica de Lisboa, **2007**, 25-35.

